

Aus dem Institut für Parasitologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. J. Boch

VERSUCHE ZUR IMMUNISIERUNG VON KANINCHEN GEGEN CYSTICERCUS PISIFORMIS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur

Erlangung des Grades eines Doktors der Veterinärmedizin
an der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter A. Bachmann
Tierarzt aus Oschersleben

Berlin 1964

Journal-Nr.: 469

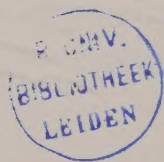
Aus dem Institut für Parasitologie
der Veterinärmedizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin
Direktor: Prof. Dr. J. Boch

VERSUCHE ZUR IMMUNISIERUNG VON KANINCHEN
GEGEN CYSTICERCUS PISIFORMIS

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Peter A. Bachmann
Tierarzt aus Oschersleben
Berlin 1964

Gedruckt mit Genehmigung der Veterinärmedizinischen
Fakultät der Freien Universität Berlin



Dekan: Prof. Dr. H. J. Heidrich
Referent: Prof. Dr. J. Boch
Korreferent: Prof. Dr. H. J. Sinell

Tag der mündlichen Prüfung: 17. Juli 1964
Tag der Promotion: 7. 10. 64

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	2
II. Wirtsreaktion gegenüber Larvenstadien einiger Taenia-Arten (anhand des Schrifttums)	3
III. Eigene Versuche mit Cysticercus pisiformis	
1. Material und Methodik	15
2. Vorversuche	
a. Untersuchungen über die Infektiosität der Taenia pisiformis-Eier	19
b. Papierelektrophoretische Untersuchungen von Sera infizierter Kaninchen	22
c. Die Wirtsreaktion bei der Wanderung der Cysticercen in der Bauchhöhle	30
3. Hauptversuche	
a. Untersuchungen über die natürliche Re- sistenz bei Kaninchen verschiedenen Alters	37
b. Passive Immunisierung mit Immunserum ...	38
c. Aktive Immunisierung mit Bandwurm- und Finnenmaterial	40
IV. Besprechung der Ergebnisse	44
V. Zusammenfassung	49
VI. Literaturverzeichnis	50

Lebenslauf

I. Einleitung

Das Problem der Rindercysticercose ist in vielen Ländern der Welt von erheblicher hygienischer und wirtschaftlicher Bedeutung. Man versucht daher, mit verschiedenen Methoden die Verbreitung von *Cysticercus bovis* einzuschränken. Neben therapeutischen und hygienischen Maßnahmen gilt das Hauptaugenmerk in den letzten Jahren der mechanischen und biologischen Reinigung städtischer und häuslicher Abwässer. Leider ließ sich auch damit bisher ein Ansteigen der Rindercysticercose nicht verhindern.

Eine andere Möglichkeit bietet eventuell die künstliche Immunisierung. Zur vorbereitenden Klärung dieser Frage erhielt ich daher die Aufgabe neben weiteren methodischen Untersuchungen festzustellen, welchen Einfluß passive und aktive Immunisierung von Kaninchen auf die Entwicklung von *Cysticercus pisiformis* haben.

II. Wirtsreaktion gegenüber Larvenstadien einiger Taenia-Arten (anhand des Schrifttums)

Erste Untersuchungen über biologische Zusammenhänge von Invasionslarven in Zwischenwirten und geschlechtsreifen Taenien in Säugetieren sind von KÜCHENMEISTER (1852) und LEUCKART (1854) beschrieben worden. Später befaßte sich besonders LEUCKART (1856) mit der Aufklärung der Körperwanderung und Entwicklung der Bandwurmfinnen, speziell von *Cysticercus pisiformis*.

Taenia pisiformis kommt im Dünndarm von Caniden, besonders bei Jagdhunden und Füchsen vor. Träger der Invasionslarven (Finnen) sind Nager und Leporiden. Die Cysticercen erreichen erst im großen Netz und in der Serosa des Beckens die Infektionsreife. Die terminalen Proglottiden werden vom Wirtstier mit dem Kot ausgeschieden, die einzelnen Eier durch Schrumpfung oder Mazeration der Bandwurmglieder (KOTLAN, 1960) frei.

Über die Lebensdauer von *Taenia pisiformis*-Eiern liegen nur Untersuchungen unter Laborbedingungen vor. SILVERMAN (1956/1) bewahrte Eier in physiologischer Kochsalzlösung auf und stellte bei + 4° C nach 187 Tagen, bei Zimmertemperatur nach 60 Tagen noch Infektionstüchtigkeit fest. Bei Austrocknung waren sie lediglich 14 Tage lebensfähig. An anderer Stelle beschreibt SILVERMAN (1954/1), daß bei Lagerung von Bandwurmgliedern für 10 - 14 Tage in physiologischer Kochsalzlösung 10 - 50 % der Eier in der Proglottide nachreifen.

Nach Aufnahme reifer Eier durch entsprechende Zwischenwirte zerfällt nach Untersuchungen von SILVERMAN (1954/2) die äußerste Hülle (Embryophore) in hexagonale Blöcke (10 x 2-3 μ) und die darunter liegende Grundmembran wird verdaut, so daß die sechshakige Oncosphäre mit der Oncosphärenmembran übrig bleibt. Reißt schließlich auch diese Membran, kann sich die Oncosphäre aktiv fortbewegen. Dieser Verdauungsvorgang wird in der angelsächsischen Literatur mit "to hatch" oder "hatching" umschrieben. Es scheint zweckmäs-

sig, das Wort "schlüpfen" hier gegenüberzustellen, obwohl der Vorgang damit nicht präzise gekennzeichnet ist.

Die Oncosphären bohren sich nunmehr in die Darmwand und gelangen über die Pfortader in die Leber. Schon 1856 wies LEUCKART im Pfortaderblut von 24 Stunden zuvor infizierten Kaninchen diese Invasionslarven nach. 4 Tage später sind die Larven zu 300 μ großen, weißen Pünktchen herangewachsen. Nach weiteren 2 Tagen haben sie eine Größe von 1 mm, nach insgesamt 14 Tagen messen sie 1,5 mm.

Jetzt setzt eine erneute Wanderung unter den serösen Überzug an die Oberfläche der Leber ein. Der Zeitpunkt des Verlassens der Leber wird unterschiedlich angegeben. Nach LEUCKART (1856) wandern die Larven zwischen 21 und 28 Tagen, nach KOTLAN (1960) am 14. Tage, nach WHITLOCK (1960) 30 Tage nach der Infektion aus und liegen für einige Tage frei in der Bauchhöhle. Die Zellen im Inneren der Larve degenerieren nun. Es entsteht so allmählich die Flüssigkeit enthaltende Finnenblase. Nach einer weiteren Wanderung zwischen die Serosablätter des großen Netzes und in die serösen Häute des Beckenbodens ist *Cysticercus pisiiformis* nach 8 Wochen infektionstüchtig.

Die terminalen Proglottiden von Taenia saginata, dem unbewaffneten Bandwurm des Menschen, können aktiv aus dem Enddarm auswandern. Diese Eier sind nach SILVERMAN (1956/1) wohl etwas widerstandsfähiger bei + 4° C (335 Tage) als diejenigen von *Taenia pisiformis* (187 Tage). Demgegenüber sind PENFOLD und Mitarb. (1937/1) der Ansicht, daß Eier von *Taenia saginata* bei 2 - 5° C zwar 13 1/2 Wochen infektionstüchtig bleiben, nach 16 1/2 Wochen die Lebensfähigkeit aber verloren geht. So kam es unter natürlichen Verhältnissen (nach Verbringen von Eiern auf trockene Weiden) noch nach 14 1/2 Wochen zur Infektion von Rindern. Bewahrt man *Taenia saginata*-Proglottiden etwa 14 Tage in physiologischer Kochsalzlösung auf, so reift ebenfalls ein erheblicher Teil der Eier nach. Der vornehmliche Sitz der Rinderfinnen (*Cysticercus bovis*) sind Kaumuskeln, Zunge, Herzmuskel, Diaphragma

und Oesophagus.

Große Ähnlichkeit mit *Taenia pisiformis* bei der Entwicklung der Invasionslarven haben der Katzenbandwurm *Taenia taeniaeformis* (*Cysticercus fasciolaris* in der Leber von Nagern) sowie der Hundebandwurm *Taenia hydatigena* (*Cysticercus tenuicollis* bei Wiederkäuern und Schweinen). *Cysticercus fasciolaris* weicht etwas vom typischen Cysticercusbau insofern ab, als der lange Schwanzfortsatz bereits eine oberflächliche Segmentation (*Strobilocercus*) aufweist.

Auch wenn es sich bei diesen Parasitenstadien um spezifische Schmarotzer bestimmter Zwischenwirte handelt, setzen doch gewisse Abwehrmechanismen ein. Einen allgemeinen Überblick über Empfänglichkeit und Resistenz bzw. über das Wirt-Parasit-Verhältnis bei Cestoden-Infektionen geben CHANDLER (1932) und LARSH (1951).

Eine natürliche Resistenz gegenüber Infektionen mit *Cysticercus fasciolaris* beschreiben DOW und JARRETT (1960). Sie halten 14 - 21 Tage alte Mäuse für besonders empfänglich. Geschlechtsgebundene Resistenz wurde nicht, wohl aber eine unterschiedliche Widerstandsfähigkeit einzelner Gruppen bzw. Stämme festgestellt. Ähnlich fand GREENFIELD (1942) eine deutliche Altersresistenz bei über 25 Tage alten Ratten. CAMPBELL und MELCHER (1940) vertreten nach ihren Versuchen mit Oestrogen die Meinung, daß es eine geschlechtsgebundene Resistenz gegenüber *Cysticercus crassicollis* (*fasciolaris*) gibt. Weibliche Tiere schienen widerstandsfähiger zu sein als männliche. Durch FROYD (1960) wird gleichfalls eine geschlechtsgebundene Resistenz beschrieben; weibliche Tiere waren für *Cysticercus bovis* weniger anfällig als männliche. Auch die Entwicklung einer Altersresistenz besteht bei Rindern. Nach Ansicht des Autors ist jedoch nur mit einem leichten Absinken des Vorkommens von *Cysticercus bovis* bei zunehmendem Alter zu rechnen. Gegenüber *Cysticercus pisiformis* bei Kaninchen glaubt SILVERMAN (1956/3), nach Versuchen an 24 Kaninchen im Alter von 4 - 16 Wochen, daß in einem Alter von über 7 Wochen ein merklicher Rückgang der Infektionsbereitschaft eintritt.

Fragen, die mit der natürlichen Resistenz im Zusammenhang stehen, treten heute zugunsten der Probleme um die erworbene Widerstandsfähigkeit etwas in den Hintergrund. Eine derartige Immunität kann entweder auf natürlichem oder künstlichem Wege entstehen.

Die natürliche Immunität soll einen einmal befallenen Wirt vor einer erneuten Infektion schützen. Eingehende Untersuchungen darüber liegen von KERR (1935) und SIMA (1938), die mit *Taenia pisiformis*-Eiern arbeiteten, von SCHILLER (1949) über *Cysticercus fasciolaris* und von GEMELL (1962) über *Cysticercus pisiformis*, *C. tenuicollis* und *C. ovis* vor. Schon die Entwicklung nur einer Finne aus der Initialinfektion soll Superinfektionen verhindern.

Es ist interessant, daß eine natürlich erworbene Immunität nach Angaben von MILLER (1931/2) dem Wirt größere Schutzkraft verleiht als eine künstliche Immunität. So infizierten PENFOLD und Mitarb. (1936) sowie PENFOLD und PENFOLD (1937) junge Rinder mehrere Male in verschiedenen Abständen mit Eiern von *Taenia saginata*, nachdem eine Initialdosis von 400 000 Eiern verabfolgt worden war. Nach Schlachtung der so behandelten Tiere konnten keine lebenden Finnen nachgewiesen werden. Lediglich calcifizizierte Finnen wurden gefunden. SWEATMAN (1957) beschreibt ähnliche Vorgänge bei Infektionen von Schafen mit Eiern von *Taenia hydatigena*. Schon 50 Eier (etwa 6 *Cysticercen*) würden nach seiner Ansicht genügen, um Lämmer und Schafe gegenüber weiteren Infektionen zu immunisieren.

Eine völlig andere Methode zur Immunisierung gegenüber *Cysticercus*invasionen, die vielleicht einmal praktische Anwendung finden könnte, beschreiben DOW und Mitarb. (1962). *Taenia fasciolaris*-Oncosphären wurden mit Röntgenstrahlen (40 000 - 100 000 r) inaktiviert und an Mäuse verfüttert. Alle mit je 200 Oncosphären behandelten Tiere waren gegenüber Superinfektionen vollständig geschützt. Allerdings wird die Dauer der Immunität von MILLER und MASSIE (1932) bei mit *Cysticercus fasciolaris* infizierten Mäusen mit nur 60 Tagen (nach Entfernung der Finnen) angegeben.

Bei Rindern stellten PENFOLD und PENFOLD (1937) eine Immunität bis zu einem Jahr nach einer Initialinfektion mit 400 000 *Taenia saginata*-Eiern fest.

Umfangreiche Untersuchungen über die eine Immunität herbeiführenden Mechanismen werden von verschiedenen Autoren beschrieben. LEONHARD und SMITH (1939) sowie LEONHARD und LEONHARD (1941) untersuchten die Rolle der Darm-schleimhautzellen bei der Entstehung einer Immunität. Sie stellten fest, daß die Darmwand bei immunisierten Tieren für geschlüpfte Larven die Hauptbarriere darstellt. Immunisierte und unbehandelte Kaninchen wurden zu diesem Zweck sowohl mit Eiern per os als auch mit geschlüpfen *Taenia pisiformis*-Oncosphären in die Pfortader infiziert. Bei den per os angesteckten Tieren wurden im Durchschnitt 39 (immunisierte Gruppe) und 1 000 Finnen (Kontrollgruppe) gegenüber 1 339 und 1 272 *Cysticercen* bei den durch die Pfortader infizierten Kaninchen gefunden. Auf Grund dieser Ergebnisse nehmen die Autoren eine i n t e s t i n a l e und eine p a r e n - t e r a l e Immunitätsphase an.

Schon CAMPBELL (1938/2) hatte darauf hingewiesen, daß die Entwicklung einer Immunität in zwei zeitlich verschiedene Abschnitte fällt. Er benutzte die Begriffe "frühe" und "späte" Immunität, erstere von sich entwickelnden, letztere durch die enzystierten Larven verursacht. In weiteren Untersuchungen stellte CAMPBELL (1938/1 und 3) fest, daß die Antikörper der "frühen" Immunität im Serum vorhanden sind, sich aber von frischem Wurmmaterial, im Gegensatz zu den Antikörpern der "späten" Immunität, nicht absorbieren lassen. Allerdings wurden derartige von der "frühen" Immunität herrührenden Antikörper nicht bei künstlich immunisierten Tieren gefunden. Der Autor vermutet, daß die Bildung nichtabsorbierbarer Antikörper durch Antigene hervorgerufen wird, die eng mit der Entwicklung der Larve im Zusammenhang stehen. GEMELL (1962) glaubt ebenfalls, daß es eine "frühe" und eine "späte" Immunität gibt. Er nimmt an, daß die Möglichkeit einer Immunitätsentwicklung schon während der Intestinalphase besteht, wobei sich die Anti-

Körper entweder gegen somatische Antigene oder gegen Stoffwechselprodukte der Larven richten sollen.

Nach LEONHARD (1940) beruht der Immuneffekt auf einer schnelleren Wirtsgewebereaktion gegenüber dem eindringenden Parasiten. Larven von *Taenia pisiformis* begannen in immunisierten Kaninchen schon 4 Tage post infectionem eine "arrested development", während bei Kontrolltieren erst 9 - 10 Tage p. i. eine gewisse Abkapselung der Läsionen durch Fibrozyten erfolgte. Ferner konnten tote Larven bei immunisierten Kaninchen schon 6 Tage p. i., bei Kontrolltieren erst 10 Tage p. i. diagnostiziert werden. Daß die sich entwickelnden Larven in immunisierten Tieren einer wesentlich intensiveren Wirtsgewebereaktion ausgesetzt sind, läßt sich aus den von MILLER und KERR (1932) mit *Taenia pisiformis* sowie von TURNER und Mitarb. (1937) an *Taenia hydatigena* erzielten Untersuchungsergebnissen ableiten. Die in vorher immunisierten Tieren vorhandenen Finnen waren gegenüber den Kontrollen wesentlich kleiner. Freilich wird diese Erscheinung von KERR (1935) lediglich einer langsameren Entwicklung der Larven und einer damit verbundenen Verzögerung der Migration zugeschrieben.

Die durch eine Immunisierung entstehende Widerstandsfähigkeit ist mit einer Ausnahme spezifisch und läßt sich passiv mit Serum auf andere Tiere übertragen. So kann nach MILLER (1932/1 und 1935) lediglich Wurmmaterial von *Taenia pisiformis* einen gewissen Grad von Immunität auch gegenüber *Cysticercus fasciolaris* erzeugen. In einigen Fällen war die Schutzkraft sogar vollständig.

Veränderungen im Serum infizierter Tiere konnte SILVERMAN (1955 und 1956/2) mittels der Präzipitation nachweisen. Titer von 1:16 - 1:32 wurden bei Kaninchen in den ersten 14 Tagen, bei Kälbern bereits in den ersten 10 Tagen der Infektion ermittelt. Bei Zusammenbringen von Hochimmunserum mit aktivierten Oncosphären in vitro formten sich bereits nach 1 Stunde Präzipitate. Um die Hakenlarven herum bildete sich eine Membran, nach 3 Stunden trat ein lytischer und letaler Effekt ein. Positive Präzi-

pitationsreaktionen auch für die Diagnose der Rinder cysticercose beschreiben DEWHIRST und Mitarb. (1960). Sechs Wochen post infectionem fanden sie Titer bis zu 1:16 000. SZAF-LARSKI und Mitarb. (1952) verwendeten für die Präzipitation als Antigen sowohl getrocknete Scolices von Cysticercen und fanden, daß 93,3 % aller infizierten Tiere positiv reagierten, als auch Blasenflüssigkeit von Finnen. Dabei reagierten nur 82 %. Zwischen der Schwere der Reaktion und der Zahl der Finnen im Wirtstier besteht nach Ansicht der Autoren kein direkter Zusammenhang.

Schon während der Entwicklung der Larven konnten BOCH und LIEBMANN (1960) auf Grund papierelektrophoretischer Untersuchungen Verschiebungen in den Serumweißfraktionen nachweisen. Die Globuline stiegen bei gleichzeitigem Abfall der Albumine, so daß der Gesamtproteingehalt unverändert bleibt. KRAUT (1956) führt diese frühzeitigen Schwankungen bei Nagern auf die Verletzungen des Lebergewebes zurück, da bei Cysticercus fasciolaris-Infektionen die Leber zwischen dem 4. und 16. Tag post infectionem am intensivsten betroffen ist. Die höchste Konzentration an γ -Globulinen erschien jeweils in der "frühen" Immunitätsphase. Allerdings fehlen Beweise für die Zuordnung des "frühen" Immunitätsfaktors zur γ -Globulinfraktion.

Die Tatsache, daß Immunreaktionen mehr systemisch sind, haben verschiedene Autoren auch mit intradermalen Tests zu untermauern versucht. WHARTON (1931) machte diese Versuche mit Taenia pisiformis-Material. Als Antigen benutzte er 0,1 ml einer überstehenden Flüssigkeit aus einer 1 %igen Suspension pulverisierten Wurmmaterials. Von 18 infizierten Kaninchen reagierten 13 nach Verabreichung des Antigens positiv. Das Versagen der Reaktion bei den restlichen 5 Tieren wird auf Desensibilisierungsvorgänge zurückgeführt. In neuerer Zeit haben sich DEWHIRST und Mitarb. (1960) mit der ante mortem-Diagnose der Rinder cysticercose mit Hilfe allergischer Hautreaktionen beschäftigt. Von 499 verdächtigen Tieren reagierten 69 positiv. Bei den 430 Nichtreagenten wurden nach der Schlachtung keine Finnen

gefunden. Lediglich 4 positive Rinder hatten lebende, die übrigen Tiere fast ausschließlich calzifizierte Finnen. SZAFIARSKI und Mitarb. (1952) fanden bei an infizierten Schafen durchgeführten Hauttests auf *Cysticercus tenuicollis* 82 - 95 % Reagenten.

Über die Wirksamkeit einer künstlichen Immunisierung gegen *Cysticercus*-befall sind im Schrifttum umfangreiche, aber sehr unterschiedliche Angaben zu finden. Erste Untersuchungen über die Erzeugung einer aktiven künstlichen Immunität beschreiben MILLER (1931/1) sowie MILLER und KERR (1932) mit *Cysticercus fasciolaris* und *pisiformis*. Die Entwicklung von *C. fasciolaris* wurde durch periodische Injektionen von Wurmmaterial vor der Testinfektion fast vollständig gehemmt. Ähnliche Ergebnisse erzielten die Autoren durch Injektionen von *Taenia pisiformis*-Material intraperitoneal, intravenös und subcutan. Allerdings war die Schutzkraft nicht vollständig. Demgegenüber gelang es FENG und HOEPFLE (1939) nicht, durch Injektionen von *Taenia taeniaeformis*-Material überhaupt eine Immunität bei Nagern zu erzeugen.

FROYD (1961) versuchte erfolglos durch subcutane Injektionen geschlüpfter *Oncosphären* eine Immunisierung bei 6 Tage alten Kälbern. An der Injektionsstelle entwickelten sich zwar lokal *Cysticercen*, eine Immunität gegenüber Infektionen per os fehlte aber. CAMPBELL (1936) immunisierte weiße Ratten mit einzelnen Albumin- und Polysaccharid-Fractionen von Wurmmaterial erfolgreich gegen *Cysticercus fasciolaris*. B-Proteine waren dagegen nur wenig wirksam.

Über die Dauer und die Zeitspanne bis zum Wirksamwerden einer Immunität geben MILLER (1932/2) und KERR (1935) Auskunft. Sie sind der Ansicht, daß die Immunität gegenüber Infektionen mit *Cysticercus fasciolaris* und *C. pisiformis* bereits nach 21 Tagen voll wirksam ist. 167 Tage nach der letzten Antigengabe bestand noch Immunität. Dagegen versagte der Versuch aktiver Immunisierung erst nach der Testinfektion.

Die bisher beschriebenen Immunisierungsversuche wurden stets durch mehrmalige Antigen-Injektionen durchgeführt. Dabei erreichte insbesondere MILLER (1935) eine totale, KERR (1935) dagegen nur eine partielle Immunität. Inwieweit der Grad einer Immunität von der Häufigkeit der Antigengaben abhängt, wurde nicht geklärt. Lediglich TURNER und Mitarb. (1937) berichten, daß sich bei 1 - 3 Antigengaben wesentlich weniger *Cysticercus tenuicollis* zu entwickeln schienen als nach 3 - 6 Gaben.

Ausführliche Untersuchungen über die Schutzkraft von Serum infizierter Tiere liegen von CAMPBELL (1938/1 und 3) vor. Danach soll die Menge der Antikörper, die sich in den ersten 14 Tagen post infectionem bilden, von der Schwere der Infektion abhängig sein. Dagegen haben bereits 1 Monat nach der Infektion alle Tiere gleichen Antikörpergehalt. Auch der Zeitpunkt der Serumapplikation vor der Testinfektion ist für die Wirksamkeit von entscheidender Bedeutung. Bei Gaben 4 Tage vor der Ansteckung ließ sich ein vollständiger Schutz erzielen. Erfolgte die Infektion dagegen erst am 6. Tage, bestand kein ausreichender Schutz mehr. Diese Versuche sind von MILLER (1934) sowie MILLER und GARDINER (1932/1 und 1934) sinnvoll ergänzt worden. Sie erreichten bei Serumgaben 2 Stunden nach der Infektion einen vollständigen Schutz gegen *Cysticercus fasciolaris*. Die Finnenentwicklung wurde sogar noch verhindert, wenn Immunserum innerhalb von 9 Tagen nach der Infektion appliziert wurde. Die notwendige Serummenge betrug 1 ml/100-525 g/Kgw., 1 ml/700 - 1000 g/Kgw. genügte nicht. Die Autoren glauben, daß die Schutzkraft eines Serums von der Schwere und dem Alter der Infektion abhängig ist. 4 - 9 Tage nach der Infektion von Spendertieren genommenes Serum hemmte die Entwicklung von *Cysticercus fasciolaris* nur unvollständig.

MILLER und GARDINER (1932/2) erreichten eine Immunität gegen *Cysticercus fasciolaris* durch intraperitoneale Gaben sowohl von Serum als auch von Wurmmaterial.

26 - 36 Tage nach der Antigengabe bestand eine völlige Immunität. Bei diesen Versuchen konnte festgestellt werden, daß Sera von gegen *Cysticercus fasciolaris* aktiv immunisierten Tieren weniger Schutzkraft besaßen als Sera von natürlich infizierten Nagern.

Leider sind in der einschlägigen Literatur über die Möglichkeiten passiver Immunisierung sehr widersprüchliche Angaben über die Vollständigkeit einer Immunität zu finden. Es scheint, daß nur in wenigen Fällen, und dann nur nach mehreren Immunisierungen eine klare Immunität erzielt werden konnte.

Die im Schrifttum vorliegenden Angaben über die bei der Infektion der Versuchstiere angewandte Methodik sind recht zahlreich. Es soll daher hierzu kritisch Stellung genommen werden. Stets wurde versucht, die Infektiosität der Eier zu bestimmen, um vergleichbare Werte bei der Auszählung der Finnen zu erhalten. HINZ (1962) und ROHDE (1960) glauben, daß Proglottiden von *Taenia taeniaeformis* mit einem Verhältnis Länge : Breite von 4 : 1 einen für Infektionen ausreichenden Reifegrad der Eier aufweisen. Für *Taenia pisiformis* betrage das Verhältnis bei reifen Proglottiden 2 : 1. Auch nach JONES und Mitarb. (1960) besitze bei *Taenia taeniaeformis* das Längen/Breitenverhältnis einer Proglottide eine Aussagekraft für die Reife der Eier; denn alle Eier befänden sich innerhalb einer Proglottide im gleichen Reifezustand. Dagegen trifft dies für *Taenia saginata* und *T. pisiformis* nicht zu, da nach Untersuchungen von SILVERMAN (1954/2) in reifen Proglottiden reife und unreife Eier nebeneinander vorkommen. Die Prozentzahlen reifer Eier in den letzten 20 frischen Bandwurmgliedern schwanken bei *Taenia saginata* zwischen 9 und 78 %. Es wurde bereits erwähnt, daß ein Teil der Eier noch in den ausgeschiedenen Proglottiden nachreift.

Zur Unterscheidung reifer und unreifer bzw. lebender und toter Eier verbrachte SILVERMAN (1954/1) Eier von *Taenia saginata* und *T. pisiformis* bei 37 - 39° C in Verdauungssaft aus 500 mg Pankreatin, 20 mg Cholesterin,

500 mg Natriumtauroglykocholat, 20 mg Trypsin, 500 mg Natriumbicarbonat und 50 ml Aqua dest. Statt der Gallensalze ist nach Ansicht des Autors auch Gallenflüssigkeit aller Tiergattungen verwendbar. Die günstigste Wirkung entsteht nach HUFFMAN und JONES (1962) bei Zusatz von 10 % Gallenflüssigkeit. Nach Vorbehandlung mit Pepsin wiesen die Oncosphären von *Taenia saginata* bis zu 74 %, von *T. pisiformis* ohne Pepsinbehandlung bis zu 63 % Beweglichkeit auf. Unreife Hakenlarven schlüpfen nicht, tote sind mit einer körnigen Masse angefüllt. Auf Grund dieser Ergebnisse wurde von SILVERMAN (1956/3) zur Errechnung eines Index für die Infektiosität der Eier eine Infektiositätsformel vorgeschlagen. Der sogenannte Infektiositätsindex setzt sich aus den Komponenten

Zahl der Finnen

$\% \text{ der Motilität} \times \text{Zahl der gefütterten Eier}$

zusammen. Eine Unterscheidung lebender und toter Oncosphären soll auch durch Vitalfärbungen möglich sein. Als brauchbarster Farbstoff wird Nilblausulfat empfohlen.

Demgegenüber berichten HUFFMAN und JONES (1962) von nur wenig verlässlichen Vitalfärbungen an *Taenia taeniaeformis*. Es gelang auch nicht, selbst bei höherem Zusatz von Gallenflüssigkeit mehr als 14 % der geschlüpften Oncosphären zu aktivieren. Die Verfasser glauben nicht, daß zwischen Schlupfergebnis und Prozentsatz der Motilität Zusammenhänge bestehen. Dagegen fanden sie eine lineare Beziehung zwischen Schlupfergebnis und Infektiosität, freilich unter Berücksichtigung einer großen Fehlerbreite.

Schon 1934 hatten BULLOCK und Mitarb. Eier von *Taenia taeniaeformis* zum Schlüpfen gebracht. Sie verwendeten Darmsaft, schienen sich aber über den Wert von Gallenflüssigkeit für die Aktivierung der Oncosphären noch nicht klar gewesen zu sein. Sie glaubten damals, daß die Empfänglichkeit eines Tieres hauptsächlich vom pH-Wert im Darm abhängt. PENFOLD und Mitarb. (1937/2) benutzten für den Schlupf von *Taenia saginata*-Eiern ein Pepsin-Pankreatin-

Gemisch sowie Natriumhypochlorit. Nach ihren Feststellungen schlüpften lebende und tote Eier gleich gut. Erstmals verwendeten LEONHARD und SMITH (1939) Gallenflüssigkeit für ein Medium (Tyrode-Lösung mit 1 % Trypsin, 0,5 % Hundegalle und Calciumcarbonat bis zum Erreichen eines pH-Wertes von 7,3) zur Verdauung der Eischalen von *Taenia pisiformis*.

Abgesehen von den SILVERMAN'schen Untersuchungen sind kaum quantitative Ergebnisse bekannt geworden, so daß die einzelnen Methoden nur schwer zu vergleichen sind. Inwieweit die Aktivierung der Oncosphären wirklich ein Kriterium für die Infektiosität der Eier darstellt, sollten daher weitere Untersuchungen klären.

III. Eigene Versuche mit Cysticercus pisiformis.

Im Hinblick auf die allmähliche Verringerung der Verfinnung der Rinder (*Cysticercus bovis*) in Deutschland gewinnen Versuche der passiven und aktiven Immunisierung gegen Helminthen an Bedeutung. Zur Aufklärung der prinzipiellen Möglichkeit bieten sich Experimente an Kaninchen mit *Cysticercus pisiformis* an, bevor mit einem erheblichen finanziellen Aufwand Versuche an Jung-rindern durchgeführt werden. Dies war umso notwendiger, als nach kritischer Durchsicht der mir zugänglichen Literatur bisher recht unterschiedliche Ergebnisse und Erfahrungen über die Möglichkeiten einer wirksamen Immunisierung von spezifischen Wirtstieren gegenüber *Cysticercen* vorliegen.

1. Material und Methodik

Als Versuchstiere dienten insgesamt 170 Kaninchen verschiedenen Alters und Geschlechts, die der institutseigenen Zucht entstammten. Für die einzelnen Versuchsanordnungen wurden Tiere verschiedener Würfe gleichmäßig über die Gruppen verteilt.

Als Infektionsmaterial verwendete ich *Taenia pisiformis*-Eier aus Bandwurmgliedern infizierter Versuchshunde. Die Proglottiden wurden von Kotresten gesäubert, in fließendem Wasser gewaschen und dann 8 - 14 Tage lang bei Temperaturen von 15 - 20° C in mehrmals erneuerter physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt.

Die zur Eigewinnung bestimmten Proglottiden wählte ich nach dem Vorschlag von ROHDE (1960) aus (Länge-Breite 2:1), zerfaserte sie einzeln in einem Uhr-gläschen, drückte die Eier aus den Uterusästen heraus und entfernte die zerfaserten Muskelanteile. Von der verbleibenden Eispension wurde von jedem Uhr-gläschen eine getrennte Probe entnommen und 10 Minuten bei

2000 U/Min. zentrifugiert. Nach Entfernung der überstehenden physiologischen Kochsalzlösung versetzte ich die Eier mit einer von SILVERMAN (1954/1) beschriebenen, etwas modifizierten Verdauungsflüssigkeit aus 500 mg Pankreatin, 500 mg Natriumbicarbonat, 20 mg Trypsin, 4 ml Rindergalle und 50 ml Aqua dest. Diese Aufschwemmung wurde 30 Minuten unter mehrmaligem Umschütteln bei 37 - 39° C in einem Wasserbad bebrütet und dann von jeder Proglottide der Hundertsatz der geschlüpften Eier bestimmt. Nur Eier von Bandwurmgliedern mit möglichst hohem Schlupfanteil kamen zur Verwendung.

Die auf diese Weise ausgewählten Eier wurden zusammen in einer bestimmten Menge physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Bei jeweils 5 Proben der gewissenhaft durchmischten Suspension zählte ich die Eier in einer 0,1 ml fassenden Zählkammer (Seitenlänge: 0,5mm, Tiefe: 0,25mm) aus und errechnete aus dem mittleren Durchschnitt und der Flüssigkeitsmenge die Gesamteizahl. Von dieser Eiaufschwemmung wurde dann wiederum nach dem bereits beschriebenen Verfahren der Gesamtschlupfanteil (jeweils 400 Eier wurden ausgezählt) in % bestimmt. Danach zentrifugierte ich die Suspension 20 Minuten lang bei 2000 U/Min. Ich wählte Zentrifugenröhrchen mit möglichst kleinem Durchmesser, da sich die Eier sonst nicht absetzten. Die überstehende physiologische Kochsalzlösung wurde dann abpipettiert und die Eier in der gewünschten Konzentration in frischer, auf 38° C erwärmter Kuhmilch gleichmäßig aufgeschwemmt. Mit einer Record-Spritze mit Knopfkanüle wurden jeweils 2 ml der gründlich durchmischten Milch-Eiaufschwemmung den Kaninchen auf den Zungengrund gegeben, um ein sofortiges Abschlucken zu garantieren. Je nach Versuchszweck tötete ich die Tiere 23 - 56 Tage nach der Infektion. Cysticercen, soweit sie noch frei waren, las ich aus der Bauchhöhle. Sonst wurden sie aus dem großen Netz und vom Beckenboden herauspräpariert und gezählt.

Für die aktive Immunisierung wurde frisches Bandwurmmaterial unter fließendem Wasser gesäubert, in

Aqua dest. gewaschen und in einem Mörser fein zerkleinert. Von diesem Brei bereitete ich eine 2 %ige Aufschwemmung in physiologischer Kochsalzlösung, die dann bei $- 22^{\circ} \text{C}$ verschlossen aufbewahrt wurde. Für frisches Finnenmaterial als Antigen wurden ganze Cysticercen einschließlich der Blasenflüssigkeit verwendet. Getrocknetes Antigen (Wurm- und Finnenmaterial) wurde nach einer von AUGUSTINE und LHERISSON (1946) beschriebenen Methode gewonnen. Dazu wurden die Proglottiden bzw. Cysticercen in fließendem Wasser gewaschen, in Aqua dest. gespült, danach 3 - 4 Tage in einem Desiccator unter Vacuum über konzentrierter Schwefelsäure getrocknet und dann pulverisiert und in physiologischer Kochsalzlösung auf der Basis des Frischgewichtes 2 %ig suspendiert. Die Immunisierung nahm ich mit 2 ml der Suspension pro kg Körpergewicht (intraperitoneal) jeweils 8 oder 20 bzw. 35 und 50 Tage vor der Testinfektion vor.

Für die passive Immunisierung wurde Serum von stark mit *Cysticercus pisiformis* infizierten Kaninchen gewonnen. Das aus der Ohrvene mit Hilfe einer Impflanzette entnommene Blut bewahrte ich eine Nacht bei $+ 4^{\circ} \text{C}$ auf, bevor ich es 20 Minuten lang bei 3000 U/Min. zentrifugierte. Danach erfolgte das Abpipettieren des Serums und eine sofortige Gefrierung in verschlossenen Zentrifugenröhrchen bei $- 22^{\circ} \text{C}$. Vor Verwendung wurde es bei $+ 4^{\circ} \text{C}$ aufgetaut und erneut zentrifugiert. Die von den einzelnen Tieren gewonnenen Sera wurden vor Verwendung miteinander gemischt, um für die Immunisierung Sera gleicher Stärke zu erhalten. Die passive Immunisierung erfolgte durch subcutane Gaben verschiedener Mengen Serum.

Papierelektrophoretische Untersuchungen wurden nach der von GRASSMANN und HANNIG entwickelten Methode mit dem ELPHOR-H Gerät der Fa. Bender und Hobein durchgeführt. Für die Trennungen wurde ein Veronal-Natriumacetatpuffer mit einem pH-Wert von 8,6 und einer Ionenstärke von $\mu = 0,1$ verwendet. Die Papierstreifen

(Fa. Schleicher und Schüll Nr. 2043a Mgl) wurden mit der Pufferlösung durchtränkt und dann mit Hilfe einer Mikropipette und des Serumaustragegerätes der Fa. Beckman mit 0,006 ml Serum beschickt. Die Spannung betrug bei der Aufteilung 110 Volt, die Laufzeit 16 Stunden. Nach Entnahme der Streifen aus der Elektrophoresekammer trocknete ich sie im Trockenschrank und brachte sie dann in ein Färbbad, bestehend aus Amidoschwarz 10 B in Methanol-Eisessig (9:1). Die Färbezeit betrug unter ständigem Bewegen der Streifen 10 Minuten, woran sich ein etwa 6 Stunden dauerndes Auswaschen in Methanol-Eisessig (9:1) anschloss. Zur photometrischen Auswertung wurden die entfärbten Streifen in einem durch eine Wasserstrahlpumpe aufrecht erhaltenen Vacuum mit α -Bromnaphtalin und Paraffinöl transparent gemacht. Danach wertete ich die Streifen im ELPHORA-Auswertgerät aus. Die erhaltenen Kurven zerlegte ich in die verschiedenen den einzelnen Fraktionen entsprechenden Gaußkurven und erhielt so die relativen Eiweißwerte. Zur Vermeidung einer zu großen Fehlerbreite wurden alle Sera doppelt angesetzt und ausgewertet.

Die Gesamteiweißbestimmung wurde mit der Biuretmethode mit Hilfe des Photometers nach EPENDORF (Fa. Netheler und Hinz) vorgenommen. Für die Bestimmung mischte ich 4,9 ml 0,85 %ige Kochsalzlösung und 0,1 ml des zu untersuchenden Serums und gab dazu 5 ml eines Biuret-reagenz (45 g Kalium-Natrium-Tartrat, 5 g Kupfersulfat, 5 g Kaliumjodid). Nach gründlicher Durchmischung ließ ich die Lösung 30 Minuten bei 15 - 20° C stehen und bestimmte danach die Extinktion gegenüber einem Kontrollröhrchen ohne Serum. Ich benutzte dazu eine 20 x 10 mm Küvette und einen Quecksilberfilter Hg 546 nm. Die Grammprozentzahl des Gesamtproteins las ich von einer Extinktions-Konzentrations-Kurve ab, die mit einer standardisierten Eiweißlösung (Labtrol) vorher angefertigt worden war. Für die Berechnung der Absolutwerte des γ -Globulins und des Albumins im Serum zog ich die relativen Prozentwerte und den Wert des Gesamtproteins heran.

2. Vorversuche

Für die Ermöglichung von Rückschlüssen von der Anzahl der applizierten *Taenia pisiformis*-Eier pro Infektion auf die Zahl der gefundenen Cysticercen war es notwendig geworden, Versuche zur Bestimmung der Infektiosität sowie über günstige Aufschwemmungsmedien, in denen die Eier den Kaninchen verabreicht werden konnten, voranzustellen.

a. Untersuchungen über die Infektiosität der *Taenia pisiformis*-Eier

Wie aus der Literatur zu entnehmen war, besteht u. a. nach Untersuchungen von SILVERMAN (1954/1) eine direkte Beziehung zwischen der Zahl der aktivierten Oncosphären in einer applizierten Eisuspension zur Anzahl der sich entwickelnden Cysticercen. In den eigenen Versuchen erwies sich diese Methode als nicht zuverlässig, da es in wiederholten Untersuchungen nach der Originalmethode nicht gelang, mehr als 1 % aller geschlüpften Oncosphären zu aktivieren. Auch die Verwendung von Gallenflüssigkeit in verschiedenen Konzentrationen zeigte keine fördernde Wirkung.

Es mußte daher, um einen Anhaltspunkt über die Infektiosität der jeweils gewonnenen *Taenia pisiformis*-Eier zu erhalten, in Vorversuchen geklärt werden, ob der Schlupfanteil der zur Infektion verwendeten Eier in % Schlüsse auf die Anzahl der sich entwickelnden Cysticercen zuläßt. Dazu wurden 12 Kaninchen im Alter von 8 Wochen in Gruppen zu je 4 Tieren (Gruppen I - III) verwendet. Jede Gruppe wurde mit 2 000 *Taenia pisiformis*-Eiern, deren prozentualer Schlupfanteil mit abgetöteten Eiern auf einen bestimmten Wert eingestellt wurde, infiziert. Die für diese Einstellung des Schlupfanteiles verwendeten Eier wurden 2 Stunden lang 30° C im Brutschrank ausgesetzt. Danach konnte angenommen werden, daß alle Eier abgetötet waren.

Die zur Infektion der Tiere der Gruppe I bestimmte Eisuspension wies einen Schlupfanteil von 70 % der

Gesamteizahl auf. Hier wurden keine abgetöteten Eier zugesetzt. In Gruppe II stellte ich den Schlupfanteil auf 43 % ein, Gruppe III wurde ausschließlich mit abgetöteten Eiern (Schlupfanteil 0 %) infiziert. 30 Tage nach der Infektion wurden sämtliche Tiere getötet und seziert, da zu diesem Zeitpunkt zwar alle Cysticeren die Leber bereits verlassen haben, sich aber noch frei in der Bauchhöhle befinden. Die Cysticeren können so leicht aufgesammelt werden. Dies bedeutete eine beträchtliche Arbeitersparnis gegenüber später, wenn die in das große Netz eingewanderten Finnen herauspräpariert werden müssen.

Bei der parasitologischen Untersuchung ergaben sich im Durchschnitt für Gruppe I 70 Cysticeren, für Gruppe II 59 und für Gruppe III 1 Finne (Tab. 1). Die Entwicklung von Cysticeren in Gruppe III läßt sich wohl nur dadurch erklären, daß bei Verwendung derselben Instrumente für die Infektion trotz ihrer Reinigung noch einige lebende Eier zurückgeblieben waren.

Gruppe	Schlupf %	Anzahl der entwickelten Cysticeren in den Einzeltieren				Durchschnitt
I	70	77	64	91	48	70
II	43	50	78	59	49	59
III	0	2	1	1	0	1

Tab. 1: Anzahl der Cysticeren nach Infektion von 12 Kaninchen mit *Taenia pisiformis*-Eiern unterschiedlicher prozentualer Schlupfanteile

Die Ergebnisse zeigen zwischen Gruppe I und Gruppe II einen gewissen Unterschied. Er ist aber nicht so groß, wie dies bei dem unterschiedlichen Schlupfanteil der Eier erwartet werden konnte. Der Schlupfanteil scheint eine Beziehung zur Zahl der sich entwickelnden Cysticeren zu ha-

ben. Allerdings ist eine relativ große Fehlerbreite nicht auszuschliessen.

Ein weiterer Versuch diente der Untersuchung des Einflusses verschiedener Suspensionsmedien auf die Infektiosität der Eier. Da bisher die *Taenia pisiformis*-Eier in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt wurden, wollte ich durch Verwendung anderer Medien zunächst grundsätzlich klären, ob sie die Entwicklung der Cysticerccn eventuell beeinträchtigen.

14 Kaninchen im Alter von 5 - 7 Wochen (Gruppen IV - VI) infizierte ich oral mit je 2 000 *Taenia pisiformis*-Eiern, die in verschiedenen Medien suspendiert waren. So war das Material für die Infektion der Gruppe IV in physiologischer Kochsalzlösung, für Gruppe V in einer von SILVERMAN (1954/1) vorgeschlagenen, allerdings etwas modifizierten Verdauungsflüssigkeit aufgeschwemmt. Das Infektionsmaterial für die Tiere der Gruppe V bebrütete ich zusätzlich 30 Minuten bei 38° C im Wasserbad. Für die Infektion der 4 Tiere der Gruppe VI wurden die Eier in frischer, auf 38° C erwärmter Kuhmilch aufgeschwemmt. Für die Gruppen V und VI wurde von der Gesamteisuspension ein Teil abgenommen und 20 Minuten lang bei 2 000 U/Min. zentrifugiert. Die überstehende physiologische Kochsalzlösung entfernte ich und ersetzte diese durch das entsprechende Medium.

Ähnlich wie zuvor wurden alle Versuchstiere 29 Tage nach der Infektion getötet und einer parasitologischen Sektion unterworfen. Als Kriterium für den Einfluß der einzelnen Suspensionsmedien auf das Angehen der Infektion wurde wiederum die Zahl der Cysticerccn herangezogen. In der Gruppe IV fanden sich im Durchschnitt 151 Finnen, in der Gruppe V 161 und in der Gruppe VI mit Kuhmilch 332 (Tab. 2).

Die Ergebnisse der Gruppe VI (Kuhmilch) weichen recht deutlich von denen der Gruppen IV und V ab, die sich nur unwesentlich unterscheiden. In der Gruppe VI entwickelten sich bei einer Infektionsdosis von 2 000 Eiern bei einem Schlupfanteil von 90 % 506 Cysticerccn, also 28,1 % aller geschlüpften Oncosphären.

Für die Hauptversuche kommen die Ergebnisse beider Versuche zur Anwendung. Wenn auch der Schlupfanteil der applizierten Eier in % mit seinem Zusammenhang zur Anzahl der sich entwickelnden Finnen kein absolutes Kriterium für die Infektiosität der Eier darstellt, ist er doch eine wertvolle Hilfe bei der Beurteilung des Materials vor der Infektion. Das günstige Verhältnis von Schlupfanteil der mit Milch applizierten Eier zur Zahl der Cysticeren ist für Immunisierungsversuche von großem Vorteil, denn eine möglichst hohe Finnenzahl bei den Kontrolltieren bringt die Unterschiede der Stärke der einzelnen Antigene besser zur Geltung. Daher wurden in allen Hauptversuchen die für die Infektion bestimmten *Taenia pisiformis*-Eier in Milch suspendiert.

Gruppe	Suspensionsmedium	Anzahl der entwickelten Cysticeren in den Einzeltieren					Durchschnitt
IV	phys. NaCl	202	84	76	114	231	151
V	Verd.flüss.	191	103	119	232	gest.	161
VI	Kuhmilch	506	196	274	352	-	332

Tab. 2: Anzahl der Cysticeren nach Infektion von 14 Kaninchen mit *Taenia pisiformis*-Eiern in verschiedenen Suspensionsmedien

b. Papierelektrophoretische Untersuchungen von Sera infizierter Kaninchen

Zur Klärung des Verhaltens der Serumeiweißfraktionen sowohl nach Infektion mit Eiern als auch nach Immunisierung mit Taenienmaterial wurden papierelektrophoretische Untersuchungen durchgeführt. Ziel dieser Untersuchungen war die Feststellung eventueller Zusammenhänge zwi-

schen dem Verhalten der γ -Globulinfraktion und dem Zeitpunkt des Eintrittes der Immunität. Diese Versuche erschienen notwendig, um im Verhalten des Serumeiweißes möglicherweise einen Hinweis für den Zeitpunkt der späteren Testinfektion zu finden.

Sera von 21 Tieren, aufgeteilt in eine infizierte und eine immunisierte Gruppe, wurden untersucht. In der Gruppe VII wurden 8 Kaninchen mit je 800 *Taenia pisiformis*-Eiern infiziert, 5 Tiere dienten als Kontrolle. Das Alter der Versuchstiere betrug zum Zeitpunkt der Infektion 8½ Wochen. Vor der Infektion wurde einmal Blut für Serum als Ausgangswert, vom Zeitpunkt der Infektion an jedem 3. Tag bis zum 24. Tag entnommen. Nach eigenen Beobachtungen haben zu dieser Zeit nämlich alle Finnen die Leber bereits verlassen. Es waren dann wohl große Serumeiweißschwankungen nicht mehr zu erwarten. Dies sollte durch eine abschließende Blutentnahme nach 40 Tagen bestätigt werden. Die Tötung und Sektion fand 56 Tage p. i. statt, die Zahl der dabei ermittelten Cysticercen betrug 12 (bei einer Schwankung von 9 - 15 Finnen). Aufgeführt werden nur die Werte der γ -Globulinfraktion, da hier die sich bildenden Immunkörper vermutet werden, und die Albuminfraktion, weil diese eng mit den Schäd-

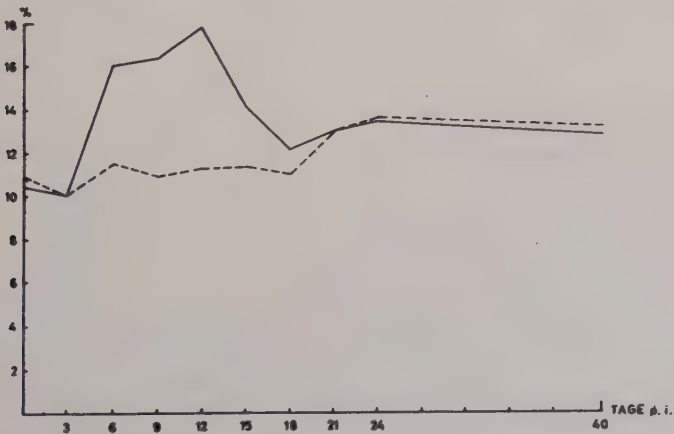


Abb. 1 Verhalten des γ -Globulins im Serum von 8 mit *Taenia pisiformis*-Eiern infizierten (—) Kaninchen und 5 Kontrolltieren (---). (Mittelwerte)

gungen der Leber in Zusammenhang stehen sollen. Zur Berechnung der Absolutwerte beider Fraktionen wurde die Gesamteiweißbestimmung herangezogen.

Die γ -Globuline stiegen 6 Tage nach der Infektion deutlich von 0,53 g % auf 0,73 g % bis zum Maximum (0,86 g %) am 12. Tag an. Dann trat ein langsamer Abfall ein, so daß am 18. Tag p. i. annähernd der Normalwert (0,59 g %) erreicht wurde. Die Extremwerte der einzelnen Tage sind in Tab. 3, das Verhalten der γ -Globuline (Mittelwert) in Abb. 1 aufgeführt.

Gleichzeitig mit dem Anstieg der γ -Globuline kam es 6 Tage p. i. zu einem Abfall der Albumine im Serum von 3,03 g % auf 2,36 g %. Vom 9. Tag an begann ein stetiges Ansteigen des Albuminwertes bis auf den Normalwert (etwa 2,88 g %) am 18. Tag. Das Absinken der Albumine ist allerdings recht kritisch zu beurteilen, da an den einzelnen Tagen auch bei den Kontrolltieren gewisse Schwankungen auftraten (Abb. 2). Von diesen Schwankungen ziemlich unbeeinflusst blieb der Gesamteiweißgehalt, dessen Werte sich bei den infizierten Kaninchen zwischen 5,40 g % und 4,60 g %, bei den Kontrolltieren zwischen 5,30 und 4,60 g % bewegten (Abb. 3).

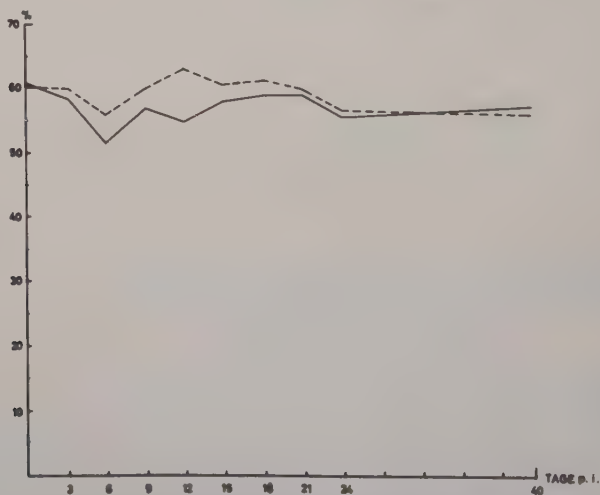


Abb. 2 Verhalten des Serumalbumins (Mittelwert) bei 6 mit *Taenia platyformis*-Eiern infizierten (—) Kaninchen und 5 Kontrolltieren (---).

Tag p.i.	γ -Globuline in g %				Albumine in g %			
	infizierte Tiere (8 Tiere)		Kontrolltiere (5 Tiere)		infizierte Tiere (8 Tiere)		Kontrolltiere (5 Tiere)	
	Mittel-	Extremwerte	Mittel-	Extremwerte	Mittel-	Extremwerte	Mittel-	Extremwerte
0	0,53	0,28-0,82	0,53	0,45-0,67	3,03	2,44-3,29	2,90	2,58-3,22
3	0,54	0,38-0,75	0,51	0,29-1,21	3,15	2,74-3,62	3,08	2,73-3,27
6	0,73	0,44-0,96	0,55	0,40-0,81	2,36	1,82-2,87	2,68	2,10-2,94
9	0,80	0,72-0,86	0,55	0,38-0,93	2,77	2,38-3,30	3,00	2,74-3,22
12	0,86	0,78-0,99	0,57	0,34-1,12	2,68	2,32-3,05	3,17	2,87-3,52
15	0,67	0,59-0,71	0,50	0,25-0,64	2,75	2,32-3,85	2,76	2,43-3,12
18	0,59	0,42-0,96	0,53	0,40-1,00	2,88	2,31-3,41	2,98	2,56-3,55
21	0,66	0,45-0,88	0,66	0,48-0,82	2,99	2,65-3,64	3,03	2,92-3,30
24	0,66	0,56-0,75	0,68	0,58-0,84	2,72	2,38-3,17	2,87	2,47-3,37
40	0,66	0,49-0,85	0,69	0,52-0,93	2,94	2,50-3,41	2,95	2,71-3,45

Tab. 3: Absolute γ -Globulin- und Albuminserumwerte von 8 mit *Taenia pisiformis*-Eiern infizierten Kaninchen und 5 Kontrolltieren

Tag p.i.	<u>δ-Globuline in g %</u>				<u>Albumine in g %</u>			
	immunisierte Tiere (5 Tiere)		Kontrolltiere (3 Tiere)		immunisierte Tiere (5 Tiere)		Kontrolltiere (3 Tiere)	
	Mittel-	Extremwerte	Mittel-	Extremwerte	Mittel-	Extremwerte	Mittel-	Extremwerte
0	0,94	0,77-1,12	0,86	0,78-1,01	3,30	3,25-3,76	3,15	2,85-3,23
6	1,03	0,86-1,18	1,01	0,72-1,34	2,85	2,38-3,29	3,24	2,89-3,44
12	1,19	0,99-1,35	0,76	0,71-0,78	2,80	2,25-3,11	3,42	3,09-3,75
18	1,03	0,88-1,21	0,73	0,71-0,84	3,30	2,91-3,64	3,25	3,17-3,30
28	0,92	0,63-1,31	0,88	0,81-0,94	3,85	3,64-3,95	3,34	2,75-3,85

Tab. 4: Absolute δ -Globulin- und Albuminserumwerte von 5 mit *Taenia pisiformis*-Antigenmaterial immunisierten Kaninchen und 3 Kontrolltieren

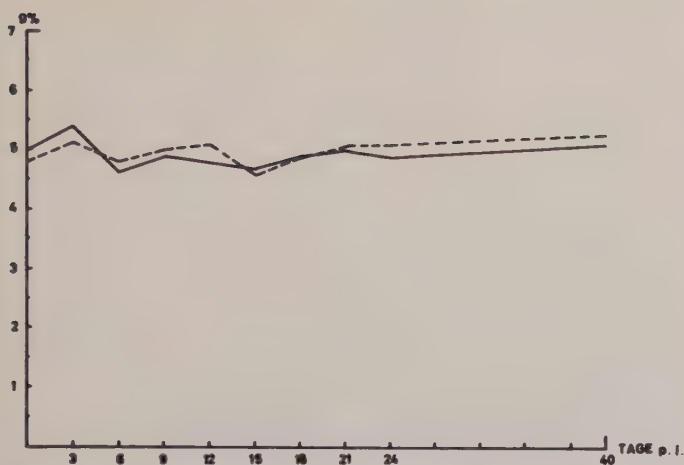


Abb. 3 Verhalten des Gesamtproteins im Serum von 8 mit *Taenia platiformis*-Eiern infizierten
(—) Kaninchen und 8 Kontrolltieren (---). (Mittelwerte)

Die Gruppe VIII umfaßte 8 Tiere im Alter von 20 Wochen. 5 Kaninchen wurden mit je 2 ml/kg einer 3,5 %igen frischen Taeniensuspension immunisiert, 3 dienten als Kontrolle. Da in der Gruppe VII die Hauptveränderungen im Serum-eiweiß zwischen dem 6. und 18. Tag nach Behandlung vorlagen, wurden bei der Gruppe VIII die einzelnen Blutentnahmen am 6., 12., 18. und 28. Tag nach der Immunisierung vorgenommen.

Auch hier war nach 6 Tagen ein Anstieg der γ -Globuline erkennbar (von 0,94 auf 1,03 g %). Nach 12 Tagen war ein Maximum von 1,19 g % erreicht, worauf ähnlich den infizierten Tieren ein stetiger Abfall erfolgte, der allerdings den Normalwert noch nicht am 18. Tag erreichte. Die Extremwerte der γ -Globuline und der Albumine wurden in Tab. 4, das Verhalten der beiden Fraktionen zu denen der Kontrolltiere in Abb. 4 und 5 dargestellt.

Etwas deutlicher als in Gruppe VII ist der Abfall der Serumalbumine bei den immunisierten Tieren. Am 6. Tag nach der Immunisierung fielen die Albumine um 0,45 g % auf 2,85 g %. Das Minimum wurde nach 12 Tagen mit 2,80 g % erreicht, wonach ein steiler Anstieg erfolgte. Die Werte der Kontrollgruppe wiesen nur unwesentliche Schwankungen zwischen 3,15 und 3,42 g % auf.

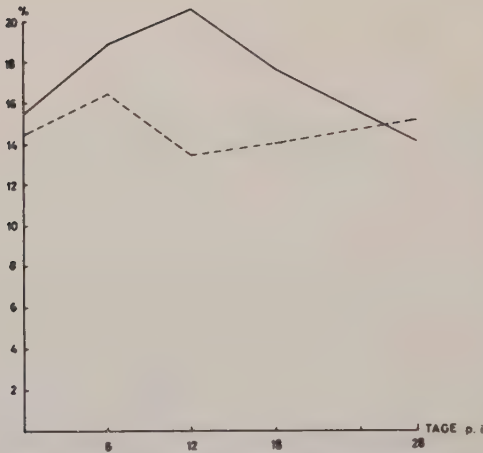


Abb. 4 Verhalten des γ -Globulins im Serum von 5 aktiv mit *Taenia pisiformis*-Material immunisierten (—) Kaninchen und 3 Kontrolltieren (---).

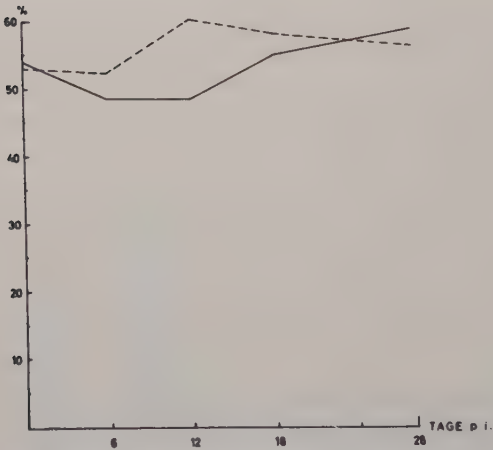


Abb. 5 Verhalten des Serumalbumins (Mittelwert) bei 5 aktiv mit *Taenia pisiformis*-Material immunisierten (—) Kaninchen und 3 Kontrolltieren (---).

Der Gesamteiweißgehalt der Gruppe VIII schwankte bei den immunisierten Tieren zwischen 5,80 g % und 6,60 g %, bei den Kontrollen zwischen 5,50 und 6,20 g % (Abb. 6).

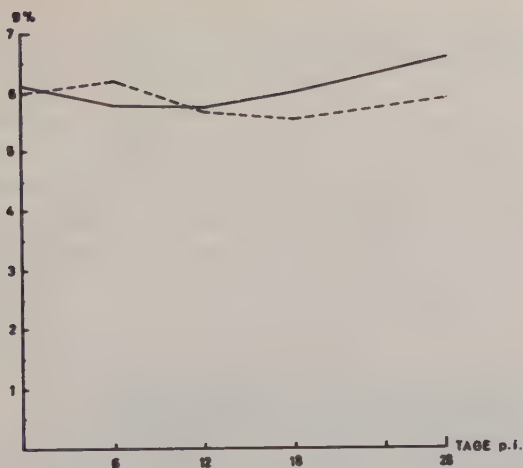


Abb. 5 Verhalten des Gesamtproteins im Serum von Saktiv mit Tannin-pisiformis-Material immunisierten (—) Kaninchen und 3 Kontrolltieren (---) (Mittelwerte)

Auf eine statistische Absicherung der Maximalwerte bei den γ -Globulinen sowie der Minimalwerte bei den Albuminen wurde verzichtet, da diese Werte sich von denen der Kontrolltiere so deutlich unterscheiden, daß sie als gesichert angenommen wurden.

Die größten Veränderungen waren sowohl bei infizierten als auch immunisierten Tieren zwischen dem 6. und 13. Tag nach Behandlung festzustellen. Bei den infizierten Kaninchen entspricht diese Zeitspanne der Leberphase der sich zu *Cysticercus pisiformis* entwickelnden Larven. Da in den immunisierten Tieren ähnliche Schwankungen zu gleicher Zeit vorlagen, scheint die Dauer der in der Leber vorgehenden Schädigungen von untergeordneter Bedeutung zu sein. Gleiches kann vom RES gesagt werden, das für die Bildung der γ -Globuline wohl verantwortlich ist.

Ob nach 13 Tagen bereits eine optimale Immunität erreicht ist, läßt sich nicht sagen. Der Grad der Wirkung scheint bei infizierten Tieren stärker zu sein. Diese wiesen eine Steigerung der γ -Globuline um 62,3 % und einen Abfall der Albumine um 22,1 % auf. Im Gegensatz dazu lagen die Werte bei den immunisierten Tieren bei 26,6 % und 15,1 %.

c. Die Wirtsreaktion bei der Wanderung der Cysticercen in der Bauchhöhle

In diesem Versuch sollte die Entwicklung der Cysticercen und die Wirtsreaktion in der Bauchhöhle vom Zeitpunkt der Auswanderung aus der Leber bis zum Erreichen der Infektionsreife im großen Netz und in der Beckenhöhle geklärt werden. Es sollte insbesondere untersucht werden, ob durch die Wirtsreaktion eine Verminderung der Cysticercen eintritt. Hier könnte eventuell eine weitere Möglichkeit liegen, bei späteren Immunisierungsversuchen einer Beeinflussung der Finnenzahl vorzubeugen.

Zu diesem Zweck wurden infizierte Tiere zu verschiedenen Zeitpunkten nach Infektion mit 2 000 *Taenia pisiformis*-Eiern (Schlupfanteil 91 %) getötet und parasitologisch untersucht. 6 Gruppen (IX - XIV) mit insgesamt 27 Tieren kamen zur Untersuchung. Das Alter der Gruppen IX, XI und XIII betrug $7\frac{1}{2}$, das der Tiere der Gruppen X, XII und XIV 16 Wochen.

Die Sektion der Versuchstiere der Gruppen IX und X fand 23 Tage nach der Infektion statt. Zu diesem Zeitpunkt waren bereits alle Cysticercen aus der Leber ausgewandert und befanden sich ausnahmslos frei in der Bauchhöhle. In der Leber waren starke Schädigungen durch Bohrgänge, die weiß-gelb durch die Serosa schimmerten, sichtbar (Abb. 7).

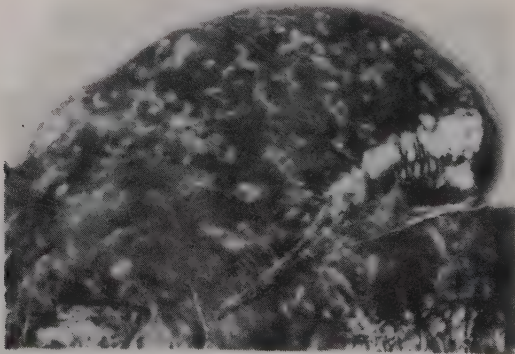


Abb. 7: Leber eines stark mit *Taenia pisiformis*-Eiern infizierten Kaninchens 23 Tage p. i. Orig.

Die Auszählung ergab in Gruppe IX 257, in Gruppe X 251 Cysticercen.

Die Sektion der Gruppen XI (7½ Wochen alt) und XII (16 Wochen alt) fand 35 Tage post infectionem statt. Zu diesem Zeitpunkt beginnen die Cysticercen in das große Netz und in die Serosa des Beckens einzuwandern. Das Netz zeigte eine stark entzündliche Reaktion in Form von umfangreichen Oedemen und starker Vergrößerung (Abb. 8).

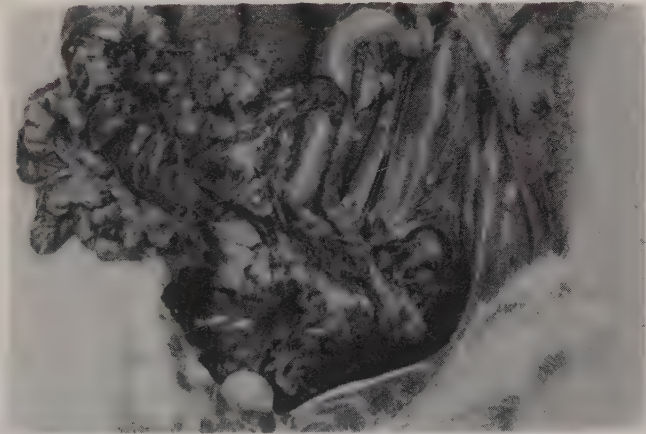


Abb. 8: Bauchhöhle eines Kaninchens 40 Tage nach der Infektion mit *Taenia pisiformis*-Eiern. Starke Verfärbung, Oedematisierung und Vergrößerung des Netzes Orig.

In der Bauchhöhle befand sich ein klares, etwas schleimiges Exsudat. Neben anscheinend normal entwickelten Finnen mit gut ausgebildeter Schwanzblase und einer Länge von 8 mm kommen auch wesentlich kleinere Formen mit ausgebildeter Schwanzblase vor. Außerdem fielen kompakte Gebilde ohne erkennbare Schwanzblase (Abb. 9) auf, bei denen auch die Kopfanlage nur angedeutet war. Es handelte sich hier offenbar um Degenerationsformen. Die Zählung der Cysticercen ergab im Durchschnitt bei Gruppe XI 197, bei Gruppe XII 133 Finnen.

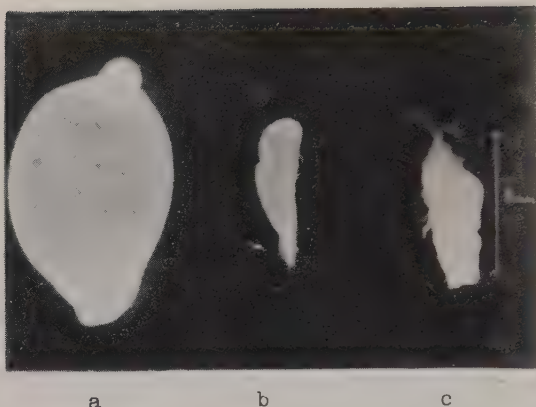


Abb. 9: Cysticercen aus der Bauchhöhle eines Kaninchens 35 Tage nach Infektion mit *Taenia pisiformis*-Eiern. a normale Finne, b und c degenerierte Formen Orig.

Die 8 Tiere der Gruppen XIII und XIV wurden zum Zeitpunkt des Erreichens der Reife der Cysticercen, 56 Tage p. i., getötet und seziiert. Die Finnen hatten sich jetzt im großen Netz bzw. eine kleine Zahl auch in der Beckenhöhle festgesetzt. Die starke Vergrößerung des Netzes sowie die dunkelrote Verfärbung und das Oedem sind noch deutlich ausgeprägt. Die anscheinend normal entwickelten Cysticercen scheinen weißlich durch die Serosablätter hindurch. Nur ein kleiner Teil der Cysticercen ist durch starke entzündliche Reaktionen verändert. Diese Finnen liegen in Form erbsengroßer, dicker, dunkelroter bis grauroter Knoten von harter Konsistenz im Netz. Bei Eröffnung dieser Gebilde tritt in einer dicken Kapsel aus einem Hohlraum eine kleine Finne mit wenig entwickelter Schwanzblase, aber erkennbarer Kopfanlage zutage. In anderen Exemplaren war kein Hohlraum festzustellen, die Oberfläche des Schnittes war homogen, eine Finne ließ sich nicht ermitteln. Bei der Zählung wurden in der Gruppe XIII im Durchschnitt 191, in der Gruppe XIV im Durchschnitt 197 Cysticercen ermittelt (Tab. 5).

Gruppe	Alter Wochen	Sektion Tage p.i.	Anzahl der entwickelten Cysticercen in den Einzeltieren					Durchschnitt
IX	7½	23	324	335	356	118	151	257
X	16	23	214	299	43	235	415	251
XI	7½	35	237	138	171	113	226	197
XII	16	35	259	173	205	114	-	188
XIII	7½	56	311	153	133	164	134	191
XIV	16	56	286	123	176	-	-	197

Tab. 5: Anzahl der Cysticercen nach Infektion von 27 Kaninchen mit *Taenia pisiformis*-Eiern bei unterschiedlichen Untersuchungszeitpunkten

Mikroskopisch ergaben sich folgende Untersuchungsbefunde.

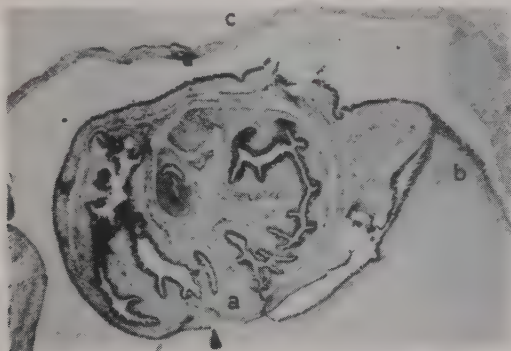


Abb. 10: Histologischer Schnitt eines normal entwickelten, reifen Cysticercus im Netz eines Kaninchens
a Scolex b Schwanzblase
c Wirtskapsel
H.E.-Färbung 25x vergr. Orig.

Der in Abb. 10 dargestellte Parasit, der in diesem Präparat aus dem Scolex und einer seitlich neben ihm liegenden Blase ohne Inhalt besteht, wird von einer schmalen, kernarmen, aus kollagenen Bindegewebsfasern bestehenden Kapsel umgeben. Zwischen dieser Bindegewebskapsel und der Finne befindet sich ein mehr oder weniger breiter Raum, der leer erscheint. In den angrenzenden Bezirken des Mesenteriums sind teils herdförmig, teils locker eingestreut, Lymphozyten und Zellen mit granulierten, roten Plasmaeibern und segmentierten oder rundlichen basophilen Kernen.

Der Schnitt zeigt einen lebenden Parasiten (Ausschnitt), der von einer vom Wirt gebildeten Kapsel umgeben ist, in der sich keine akute entzündliche Reaktion mehr abspielt.

Im folgenden Präparat (Abb. 11) befinden sich in einem nur kleinen Hohlraum Teile des Scolex (2 Saugnäpfe, Teile des Hakenkranzes) sowie seitlich eine teils homogene, rötliche, teils lamellär geschichtete Membran, bei der es

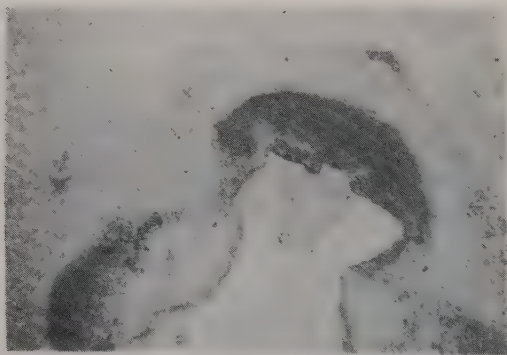


Abb. 11: Histologischer Schnitt durch einen von reaktiv-entzündlichem Gewebe umgebenen Cysticercus im Netz eines Kaninchens
H.E.-Färbung 25x vergr. Orig.

sich um Teile der Schwanzblase handeln könnte. Die Wirtskapsel zeigt in der Umgebung des Scolex in einer breiten

Schicht Ansammlungen von Zellen mit rotem Zytoplasma und pyknotischen, basophilen Kernen sowie zahlreiche andere nicht klassifizierbare Zellen und Zelltrümmer. Daneben finden sich einzelne mehrkernige Riesenzellen vom Fremdkörpertypus und stellenweise Kalkschollenhaufen. Im Anschluss an diese Zellschicht folgt eine zellarme Schicht ausgereifter, kollagener Bindegewebsfasern, an die sich peripher ein Entzündungszellwall aus eosinophilen Leukozyten mit pyknotischen Kernen sowie Lymphozyten und Zelltrümmern anschließt. In der Peripherie wird der ganze Herd von einem stark oedematös aufgelockerten und stellenweise an Entzündungszellen reichen Bindegewebe umgeben.

Es handelt sich hier ebenfalls um einen noch lebenden Parasiten in einer Wirtskapsel, die hochgradige, reaktiv-entzündliche Veränderungen (Granulationsgewebsbildung, Entzündungszellherde) aufweist.

In Abb. 12 liegt ein ausgedehnter, zumeist kompakter, stellenweise aber auch wabenartig aufgelockerter Herd vor, der zum großen Teil aus homogenen, eosinophilen

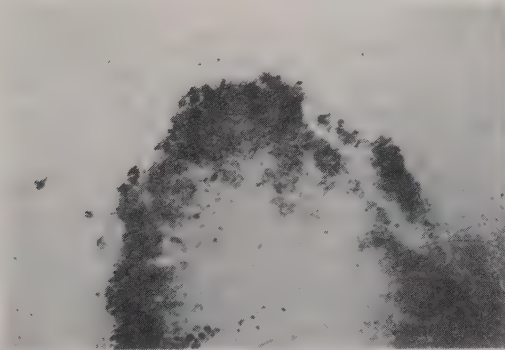


Abb. 12: Histologischer Schnitt durch einen von entzündlichem Granulationsgewebe umgebenen, vermutlich toten *Cysticercus* im Netz eines Kaninchens
H.E.-Färbung 25x vergr. Orig.

Massen besteht, zum anderen Teil aus basophilen, teils scholligen, teils kugelförmigen Elementen zusammengesetzt

ist. Diese stark basophilen Gebilde sammeln sich besonders in der Peripherie an, durchsetzen aber auch im Zentrum die beschriebenen nekrotischen Bezirke. Außerdem finden sie sich in der Bindegewebskapsel, die den ganzen Herd umgibt. Bei der van Gieson - Färbung weisen nur die äußeren Schichten dieser Kapsel rot angefärbte kollagene Fasern auf, während die inneren Schichten aus orangefarbenen, kernlosen Lamellen zusammengesetzt sind. Bei der Kalkfärbung nach Kossa färbt sich nur ein Teil der basophilen Gebilde schwarz an, besonders in der Peripherie, während die schollen- und kugelförmigen Gebilde im Inneren lediglich einen braunen Farbton annehmen. Die angrenzenden Teile des Mesenteriums weisen locker eingestreute, entzündliche Infiltrationen von Lymphozyten und eosinophilen Leukozyten auf.

In diesem Fall scheint der *Cysticercus* abgestorben und das durch Nekrosen entstandene Material von zahlreichen Kalkschollen durchsetzt zu sein. Die Bindegewebskapsel erscheint weitgehend ausgereift. Die Natur der basophilen, kugelförmigen Gebilde, die zahlreich inmitten des nekrotischen Materials auftreten, muß durch weitere histologische Untersuchungen geklärt werden.

Zusammenfassend läßt die Morphologie einzelner *Cysticercen* Vorgänge vermuten, durch welche die Zahl der Finnen vermindert wird. Dies kann durch Absterben schwacher und mißgebildeter *Cysticercen* erfolgen, die dann resorbiert werden. Die Finnen können aber auch einer Wirtsgewebereaktion unterliegen, degenerieren und dann resorbiert werden. Auch nach Einwanderung der *Cysticercen* in das Netz spielen sich noch entzündliche Reaktionen ab, durch die einzelne getötet werden.

Für die Hauptversuche war daraus zu entnehmen, daß eine Tötung und parasitologische Sektion möglichst bald nach Auswanderung der *Cysticercen* aus der Leber vorgenommen werden muß. Dadurch können Einflüsse auf die weitere Entwicklung ausgeschaltet werden. Der günstigste Termin für die Sektion wäre etwa der 28. oder 29. Tag nach Infektion, um auch am 23. Tag noch nicht ausgewanderte *Cysticercen* zu erfassen.

3. Hauptversuche

Mit Rücksicht auf die recht unterschiedlichen Angaben in der Literatur über natürliche Widerstandsfähigkeit und Immunität bei Helmintheninfektionen erschienen entsprechende Untersuchungen über eine eventuelle Altersresistenz notwendig, bevor eine Immunisierung gegen *Cysticercus pisiformis* versucht wurde.

a. Untersuchungen über die natürliche Resistenz bei Kaninchen verschiedenen Alters

Für diese Untersuchungen verwendete ich 12 Kaninchen verschiedenen Alters (Gruppen I - III). Die 5 Tiere der Gruppe I waren zum Zeitpunkt der Infektion 7½, die 4 der Gruppe II 16 Wochen und die restlichen 3 Kaninchen in Gruppe III etwas über 2 Jahre alt. Alle Versuchstiere wurden einheitlich mit je 2 000 *Taenia pisiformis*-Eiern infiziert. Der Schlupfanteil betrug in diesem Falle 91 %. 35 Tage p. i. tötete ich die Tiere und nahm eine parasitologische Untersuchung vor.

Bei der Auszählung fanden sich im Durchschnitt in Gruppe I 197, in Gruppe II 188 und in der Gruppe III bei über 2 Jahre alten Tieren 32 *Cysticercen* (Tab. 6).

Gruppe	Alter in Wochen	Anzahl der entwickelten <i>Cysticercen</i> in den Einzeltieren					Durchschnitt
I	7½	287	188	171	113	226	197
II	16	259	173	205	114	-	188
III	120	50	1	46	-	-	32

Tab. 6: Anzahl der *Cysticercen* bei 12 mit *Taenia pisiformis*-Eiern infizierten Kaninchen verschiedener Altersstufen

Eine deutliche Widerstandsfähigkeit gegenüber *Cysticercus pisiformis* zeigte sich nur bei 2 Jahre alten Tieren. Der Unterschied zwischen 7½ und 16 Wochen alten Tieren ist nur unwesentlich. Andererseits erscheint es nicht berechtigt auf Grund dieser Ergebnisse, auch wenn sie nur von einer kleinen Zahl von Versuchstieren erzielt wurden, von einer echten Altersresistenz zu sprechen.

b. Passive Immunisierung mit Immuns serum

Für diese Versuche verwendete ich Hochimmuns serum. Es stammte von stark mit *Cysticercus pisiformis* infizierten Kaninchen, die bei der Sektion durchschnittlich 210 Finnen aufwiesen. Nach der Gewinnung wurden die Sera bis zur Verwendung (jedoch nicht länger als 3 Monate), wie in der Serologie üblich, bei -22°C aufbewahrt. 3 Gruppen mit insgesamt 12 Kaninchen (Gruppen IV - VI) im Alter von 7½ und 16 Wochen wurden passiv immunisiert, 2 Gruppen (VII und VIII) mit zusammen 9 Tieren gleicher Altersstufen dienten als Kontrolle. Die Gruppen IV (7½ Wochen alt) und V (16 Wochen alt) bekamen 6 ml/kg, Gruppe VI (7½ Wochen alt) 3 ml/kg Hochimmuns serum subcutan verabreicht. In Anlehnung an die Angaben in der Literatur, wonach die Infektion bis 48 Stunden nach der Serumgabe erfolgen kann, wurde hier die Immunisierung der Testgruppen 36 Stunden vor der Infektion mit 2 000 *Taenia pisiformis*-Eiern pro Tier vorgenommen. Der Schlupfanteil der Eier betrug 91 %.

Bei der 35 Tage später erfolgten Tötung aller Kaninchen und Auszählung der *Cysticercen* ergaben sich recht unterschiedliche Werte. In der Gruppe IV fanden sich im Durchschnitt 99, bei den älteren Tieren der Gruppe V 114 *Cysticercen*. Bei den mit nur 3 ml/kg Serum immunisierten Kaninchen der Gruppe VI zählte ich 213 Finnen, in den Kontrolltieren der Gruppe VII 197 und VIII 188. (Tab. 7).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß sich auch nach Immunisierung mit 6 ml/kg Hochimmuns serum noch eine beträchtliche Anzahl von *Cysticercus pisiformis*

entwickelte (5,5 und 6,3 % aller geschlüpften Oncosphären, gegenüber 10,8 und 10,3 % bei den Kontrollen). Zwischen 7½ und 16 Wochen alten Kaninchen bestand ebenfalls kein wesentlicher Unterschied. Bei Verabreichung von 3 ml/kg Immuns serum entwickelten sich ähnlich viel Cysticercen (11,7 %) wie bei Kontrolltieren gleichen Alters.

Gruppe	Alter in Wochen	Hoch- immun- serum ml/kg	Anzahl der entwickelten Cysticercen in den Einzeltieren						Durchschnitt
IV	7½	6	99	32	189	75	-		99
V	16	6	189	118	87	63	-		114
VI	7½	3	321	5	265	261	-		213
VII	7½	Kontr.	287	138	171	113	226		197
VIII	16	Kontr.	259	173	205	114	-		188

Tab. 7: Anzahl der Cysticercen bei 12 verschiedenen alten, vor Infektion mit *Taenia pisiformis*-Eiern mit unterschiedlichen Mengen Hochimmuns serum immunisierten Kaninchen und 9 Kontrollen

In einem weiteren Versuch wurde Serum von Spendertieren verwendet, die durchschnittlich nur 16 Cysticercen enthielten. Es war ebenfalls vor Verwendung 2 - 3 Monate bei - 22° C aufbewahrt worden. Die Entnahme der Sera erfolgte zu verschiedenen Zeitpunkten (30 bzw. 60 Tage) nach Infektion der Spendertiere. Insgesamt wurden 3 Gruppen (IX - XI) mit je vier 10 Wochen alten Tieren untersucht. Die Immunisierung erfolgte grundsätzlich mit 6 ml/kg, dieses Mal jedoch nur 24 Stunden vor der Testinfektion mit 1 400 *Taenia pisiformis*-Eiern (Schlupfanteil 76 %). Tötung und Sektion wurden 35 Tage p. i. vorgenommen.

Gruppe IX wurde mit Serum, das von Spendertieren 30 Tage p.i. abgenommen worden war, immunisiert. Die parasitologische Untersuchung ergab im Durchschnitt 111 Cysticeren. Gruppe X immunisierte ich mit 60 Tage p.i. entnommenem Serum; bei der Sektion ermittelte ich 89 Cysticeren, während bei der als Kontrolle dienenden Gruppe XI 150 Cysticeren gefunden wurden (Tab. 8).

Gruppe	Immunserum ml/kg	Tage p.i. entn.	Anzahl der entwickelten Cysticeren in den Einzeltieren					Durchschnitt
IX	6	30	105	99	107	133	-	111
X	6	60	33	45	128	100	-	89
XI	Kontr.	-	134	108	203	-	gest.	150

Tab. 8: Anzahl der Cysticeren bei 3 mit 6 ml/kg Immunserum 24 Stunden vor Infektion mit *Taenia pisiformis*-Eiern behandelten Kaninchen und 4 Kontrollen

Der Unterschied zwischen den beiden Versuchsgruppen ist nur unwesentlich. Demnach scheint die Zeit der Abnahme der Sera nach Infektion keinen Einfluss auf die Stärke der Schutzkraft zu haben, wenn das Spendertier die Immunität erreicht hat. Ein immunisierender Effekt scheint in beiden Gruppen vorhanden, ist statistisch jedoch nicht signifikant.

c. Aktive Immunisierung mit Bandwurm- und Finnenmaterial

Für aktive Immunisierungen verwendete ich getrocknetes und frisches Bandwurm- und Finnenmaterial in 2-%iger Aufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung. Getrocknetes Antigen wurde auf der Basis des Frischgewichtes

suspendiert. 2 Versuchsreihen mit insgesamt 51 Kaninchen wurden durchgeführt.

In der ersten Versuchsreihe wurde die immunisierende Wirkung von frischem und getrocknetem Wurmmaterial mit frischem und getrocknetem Finnenmaterial verglichen. Der aktiven Immunisierung dienten 4 Gruppen mit je 5 Kaninchen, eine Gruppe mit 5 Tieren fungierte als Kontrolle. Die Tiere waren gleichmäßig 7½ Wochen alt. Pro Tier wurden 2 ml/kg der jeweiligen Antigensuspension intraperitoneal verabreicht. Die Testinfektion erfolgte, wie in der Literatur vorgeschlagen, 35 Tage nach Immunisierung mit 2 000 *Taenia pisiformis*-Eiern, deren Schlupfanteil 91 % betrug. Tötung und Sektion wurden auf Grund der in den Vorversuchen gemachten Beobachtungen 35 Tage post infectionem vorgenommen.

In der Gruppe XII wurden 5 Kaninchen mit getrocknetem und pulverisiertem Bandwurmmaterial immunisiert. Die durchschnittliche Anzahl der Cysticercen betrug 136. Gruppe XIII immunisierte ich mit frischem, lediglich zerkleinertem Taenienmaterial. Hier wurden im Durchschnitt 141 Cysticercen gefunden.

Gruppe	Art des Antigens	Anzahl der entwickelten Cysticercen in den Einzeltieren						Durchschnitt
XII	getr. Wurm	104	206	157	67	147		136
XIII	frischer Wurm	226	175	37	171	97		141
XIV	getr. Finnen	52	133	46	77	103		82
XV	frische Finnen	168	237	201	143	gest.		187
XVI	Kontrollen	287	183	171	113	226		197

Tab. 9: Anzahl der Cysticercen bei 20 mit Bandwurm- und Finnenmaterial vor der Infektion mit *Taenia pisiformis*-Eiern immunisierten Kaninchen und 5 Kontrolltieren

Die Tiere der Gruppe XIV wurden mit getrocknetem und pulverisiertem Finnenmaterial immunisiert. Die Durchschnittszahl der entwickelten Cysticercen betrug 82 (Tab. 9). Die mit frischem Finnenmaterial immunisierte Gruppe XV wies 187, die Kontrollgruppe XVI 197 Cysticercen bei der Sektion auf.

In der zweiten Versuchsreihe sollte der Beginn der durch eine aktive Immunisierung hervorgerufenen Immunität bestimmt werden entsprechend den in den Vorversuchen erzielten Ergebnissen der elektrophoretischen Serumweißuntersuchungen. Zu diesem Zweck wurden 20 Tiere im Alter von 11 Wochen in 5 Gruppen zu verschiedenen Zeiten vor der Infektion mit 1 % bzw. 2 %-iger Suspension frischen Wurmmaterials in physiologischer Kochsalzlösung immunisiert. 6 Kaninchen gleichen Alters dienten als Kontrollen. Die Testinfektion wurde mit 1 200 Taenia pisiformis-Eiern mit einem Schlupfanteil von 80 % vorgenommen. 30 Tage p. i. tötete ich alle Tiere und nahm eine parasitologische Untersuchung vor.

Gruppe	Antig. Konz. %	Imm. vor Inf. Tage	Anzahl der entwickelten Cysticercen in den Einzeltieren						Durchschnitt
XVII	2	50	9	7	20	15	-	-	13
XVIII	1	50	6	5	34	50	-	-	24
XIX	2	30	19	92	40	74	-	-	56
XX	2	20	38	42	43	53	-	-	45
XXI	2	8	98	62	111	137	-	-	102
XXII	Kontrollen		136	55	173	118	112	84	113

Tab. 10: Anzahl der Cysticercen bei 20 mit Bandwurmmaterial zu verschiedenen Zeiten vor der Infektion mit Taenia pisiformis-Eiern immunisierten Kaninchen und 6 Kontrollen

Gruppe XVII bekam 50 Tage vor der Infektion 2 ml/kg einer 2 %igen, Gruppe XVIII 2 ml/kg einer 1 %igen Suspension. Die Durchschnittszahlen der entwickelten Cysticercen betragen 13 bzw. 24 (Tab. 10).

Gruppe XIX erhielt 30 Tage, Gruppe XX 20 Tage und Gruppe XXI 8 Tage vor der Infektion 2 ml/kg der 2 %igen Suspension. 56, 45 bzw. 102 Cysticercen waren das Ergebnis 30 Tage nach der Testinfektion.

Zusammenfassend läßt sich aus den 2 Versuchsreihen feststellen, daß eine gewisse Immunisierung mit Sandwurm- und Finnenmaterial möglich ist. Bei getrockneten Proglottiden war kein Unterschied zu frischem Taenienmaterial (7,5 und 7,7 % Cysticercen) vorhanden, wohl aber zwischen getrocknetem und frischem Finnenmaterial (4,5 und 10,3 %); diese Differenz ist statistisch signifikant. Eine begrenzte Immunität scheint schon nach 20 Tagen einzutreten, jedoch erst nach 50 Tagen sehr deutlich zu werden.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Bei allen Infektionsversuchen mit *Taenia pisiformis*-Eiern an Kaninchen ist eine möglichst genaue zahlenmäßige Bestimmung der Lebensfähigkeit der Eier von besonderer Bedeutung für Vergleiche zwischen der Anzahl der applizierten Eier zur Zahl der sich entwickelnden Cysticeren. Die insbesondere von SILVERMAN (1954/1) beschriebene Aktivierung der Oncosphären mit Gallosalzen gelang in eigenen Versuchen nicht. Ein Zusatz von Gallenflüssigkeit hatte keine die Aktivierung fördernde Wirkung. Dieses Ergebnis stimmt mit den von HUFFMAN und JONES (1962) an *Taenia taeniaeformis*-Eiern erzielten Resultaten überein. Es scheint daher nicht in allen Fällen möglich zu sein, von der Anzahl aktivierter Oncosphären auf die Zahl der sich später entwickelnden Cysticeren zu schließen. Es läßt sich eher eine Beziehung zwischen dem Schlupfanteil der für die Infektion verwendeten Eier und der Anzahl der Cysticeren vermuten, allerdings ist bei Anwendung dieser Methode für die Bestimmung der Infektiosität mit einer großen Fehlerbreite zu rechnen. Die kritische Betrachtung dieser Zusammenhänge scheint umso mehr angebracht, als mit steigenden Eizahlen pro Tier die relative Zahl der sich entwickelnden Cysticeren an sich sinkt, wie dies HINZ (1962) bei der Infektion von Mäusen mit *Cysticercus fasciolaris* ebenfalls beobachtete. Trotzdem stellt die Bestimmung des prozentualen Schlupfanteiles zur Zeit die wertvollste Hilfe für die Beurteilung des Infektionsmaterials dar.

Die Zahl der entwickelten Cysticeren scheint noch von anderen Faktoren, insbesondere von Verdauungsvorgängen, abhängig zu sein. So zeigten Eier in verschiedenen Suspensionsmedien unterschiedliche Resultate. Taenieneier in physiologischer Kochsalzlösung erbrachten 8,9 %, geschlüpfte Oncosphären in Verdauungssaft 8,4 % Finnen. Mit Milch als Aufschwemmungsmedium entwickelten sich dagegen 18,4 %. Es begünstigt vermut-

lich eine etwas aktivierte Verdauung nach der Infektion die beschleunigte Passage der Eier in den Dünndarm.

Die elektrophoretischen Untersuchungen ergaben starke Anstiege der γ -Globuline sowohl bei immunisierten (bis zu 26,6 %) als auch bei infizierten (bis zu 62,3 %) Kaninchen zwischen dem 6. und 18. Tag nach Behandlung. Dies läßt sich mit einer Aktivierung des reticuloendothelialen Systems (RES) erklären. Sie wird bei infizierten Tieren durch Stoffwechselprodukte der sich entwickelnden Larven, bei immunisierten Tieren durch Verabreichung von fremdem Eiweiß hervorgerufen. Es ist auffällig, daß die Steigerung der γ -Globuline zeitlich mit der von CHANDLER (1938) gefundenen "frühen" Immunität zusammenfällt.

KRAUT (1956) machte für diese Schwankungen im Serumeiweiß die mechanischen Verletzungen der Leber verantwortlich. Für den Abfall des Albumins scheint diese Feststellung teilweise zutreffend, für das Verhalten der γ -Globuline spielen Leberschädigungen jedoch nur eine untergeordnete Rolle. Da auch bei den mit Wurmantigen immunisierten Versuchstieren die Albumine ähnlich abfielen, sind wohl nicht ausschließlich mechanische Schäden hierfür verantwortlich. Auch die Dauer der Schädigungen hatte meines Erachtens nur untergeordnete Bedeutung. Eher scheinen sich sowohl Leber als auch RES mit einem einmal gesetzten Reiz längere Zeit auseinanderzusetzen. So könnten die Verschiebungen der einzelnen Serumeiweißfraktionen in dieser Zeitspanne erklärt werden.

Nach der Normalisierung der γ -Globuline und Albumine liegt bereits eine gewisse Immunität vor, wie durch einen in vivo-Versuch bestätigt werden konnte.

Auch die Feststellung von MILLER (1931/2), daß eine natürlich erworbene Immunität eine stärkere Schutzkraft besitzt als eine künstlich erworbene, läßt sich auf Grund meiner Serumuntersuchungen bestätigen. Der Anstieg der γ -Globuline war bei den infizierten Tieren

(um 62,3 %) wesentlich höher als bei immunisierten Tieren (um 26,6 %).

Bisher sind stets nur Vorgänge in Darm und Leber für die Verminderung der Larvenzahl verantwortlich gemacht worden. Ich konnte jedoch beobachten, daß sich Cysticercen auch nach Auswanderung aus der Leber zahlenmäßig stark vermindern. Diese Reduzierung kann wohl auf einer Wirtsreaktion in der Bauchhöhle beruhen, der besonders lebensschwache oder mißgebildete Cysticercen unterliegen.

Auch nach Einwanderung in das Netz scheint es noch zu einer Verringerung der Cysticercen im Körper zu kommen. Dabei scheinen die Scolices starke Reize zu setzen; denn in histologischen Untersuchungen stellte ich dort eine wesentlich intensivere entzündliche Reaktion fest. Die Zahl solcher im Netz gefundenen degenerierten bzw. nekrotischen und calcifizierten Finnen ist jedoch vergleichsweise gering.

Von diesen Ergebnissen läßt sich ableiten, daß der Tötungstermin für die Anzahl der Cysticercen im Wirtskörper von Bedeutung ist. Eine möglichst frühzeitige (28 - 29 Tage p. i.) parasitologische Sektion läßt immunologische Untersuchungen besser für Vergleiche heranziehen, da hierdurch weitere Einflüsse auf die Cysticercen ausgeschaltet werden können.

Von den wenigen für Versuche zur Altersresistenz verwendeten Kaninchen läßt sich kaum eine abschließende Aussage machen. Nach meinen Ergebnissen zu urteilen, scheint es eine echte Altersresistenz nicht zu geben. Zwischen 7½ und 16 Wochen alten Tieren bestand kein Unterschied bezüglich der Resistenz. Auch in früheren Untersuchungen konnte ich keine Unterschiede zwischen 3 und 7 Wochen alten Kaninchen feststellen.

Dies steht freilich im Widerspruch zu den Beobachtungen von SILVERMAN (1956/3), der eine merkliche Resistenz bei über 7 Wochen alten Kaninchen gefunden hatte.

Da in eigenen Versuchen oft einzelne Kanin-

chen und solche bestimmter Würfe auch in jüngerem Alter mit starker Resistenz beobachtet wurden, scheint es sich meiner Ansicht nach in solchen Fällen wohl mehr um Individual- bzw. Gruppenresistenz zu handeln. Auch bei den 3 etwa zwei Jahre alten Tieren meines Versuches, in denen sich nur 32 Cysticercen entwickelten, könnte eine Individualresistenz vorliegen.

Bei meinen Untersuchungen über passive Immunisierung von Kaninchen gegenüber Infektionen mit *Cysticercus pisiformis* konnte ich nur eine gewisse partielle Immunität erzielen. Für den Grad der Immunität, den das Serum verleiht, scheint dabei die Stärke der Infektion der Spendertiere keine Rolle zu spielen, wie CAMPBELL (1933/1 und 3) bereits vermutete. Ebenso scheint der Antikörpergehalt im Serum der Spendertiere mit zunehmendem Alter der Infektion nicht anzusteigen. Dies konnte mit Immunserum, das 30 Tage p. i. und 60 Tage p. i. entnommen wurde, nachgewiesen werden.

Wesentlich bedeutender für die Stärke der Schutzkraft ist die Menge des pro kg Körpergewicht verabreichten Immunserums. So konnte ich mit 3 ml/kg noch keine, mit 6 ml/kg eine Immunisierung erreichen. Dies stimmt mit Ergebnissen von MILLER und GARDINER (1932/2) überein.

Es kann daher vermutet werden, daß durch passive Immunisierung keine befriedigende Immunität erreicht werden kann.

Bei den Versuchen zur aktiven Immunisierung verwendete ich Taenien- und Finnenmaterial, das in der immunisierenden Wirkung recht unterschiedlich war. Die stärkste Wirkung konnte ich mit getrocknetem Finnenmaterial erzielen, wobei sich nach Immunisierung nur 4,5 % Finnen entwickelten (Kontrolltiere 10,8 %). Auch Wurmmaterial hatte eine gute Antigenwirkung. Zwischen getrocknetem und frischem Wurmmaterial bestand allerdings kein Unterschied. Frisches Finnenmaterial besaß keine immunisierende Wirkung.

In guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen der elektrophoretischen Serumuntersuchungen konnte ich in vivo 20 Tage nach Immunisierung eine begrenzte Immunität

nachweisen. Bei diesen mit Wurmantigen immunisierten Kaninchen entwickelten sich 4,7 % (Kontrollen 11,7 %) Cysticercen, während erst 8 Tage nach Immunisierung keine Wirkung festzustellen war. Diese Ergebnisse stimmen teilweise mit den Beobachtungen von MILLER (1932/2) und KERR (1935) überein, die nach 21 Tagen schon maximale Immunität erreicht hatten.

Zwischen 20 und 30 Tagen blieb der Wirkungsgrad der Immunität etwa auf gleicher Höhe, das Optimum wurde erst am 50. Tage erreicht.

Die in den eigenen aktiven Immunisierungsversuchen erzielte partielle Immunität bestätigt die Beobachtungen von KERR (1935) sowie BOCH und LIEBMAN (1960), steht aber teilweise in Widerspruch zu Ergebnissen von MILLER (1931/1), der bei Immunisierungen gegen *Cysticercus fasciolaris* vollständige Immunität erreichte.

Zur Klärung weiterer offener Fragen, wie Wirkung stärkerer Antigensuspensionen und mehrfacher Antigengaben, sind noch intensive Untersuchungen notwendig.

V. Zusammenfassung

Zur Erarbeitung von Grundlagen für eine spätere Immunisierung gegen Rindercysticercose wurden neben einigen methodischen Beiträgen Versuche an 170 Kaninchen zur Immunisierung gegen *Cysticercus pisiformis* durchgeführt.

Nur die Verwendung von *Taenia pisiformis*-Eiern mit hoher Schlupfrate sowie deren Verabreichung in frischer Milch ergaben maximale Finnenzahlen. Der papierelektrophoretisch sichtbare Anstieg des γ -Globulins bei gleichzeitigem Abfall der Serumalbumine während der Leberphase wird nicht ausschließlich durch die mechanischen Organschäden verursacht. Sowohl in der Bauchhöhle als auch bei der Einwanderung in das Netz erfahren die Cysticercoen eine erhebliche Verringerung, sicherlich teilweise bedingt durch histologisch festgestellte starke entzündliche Wirtsreaktionen.

Eine echte Altersresistenz gegenüber *Cysticercus pisiformis* wurde entgegen manchen Literaturangaben nicht beobachtet. Bei der passiven Immunisierung brachten größere Immunserumgaben bessere Teileffekte. Durch eine aktive Immunisierung, insbesondere mit getrocknetem Finnenmaterial konnte bei Kaninchen nach 20 Tagen eine gewisse, nach 9 Wochen eine optimale, freilich nicht absolute Immunität erreicht werden.

VI. Literaturverzeichnis

1. Augustine, D.L., C. Lherisson : Studies on the specificity of intradermal tests in the diagnosis of filariasis.
Amer. J. Hyg. 43, 38-40, 1946.
2. Boch, J., H. Liebmann : Untersuchungen an *Cysticercus pisiformis* befallenen Kaninchen.
BMTW 73, 123-125, 1960.
3. Bullock, F.D., Dunning, W.F., M.R. Curtis : Observations on the digestion of the shells of the eggs of *Taenia taeniaeformis*.
Amer. J. Cancer 20, 390, 1934.
4. Campbell, D.M.: Active immunization of albino rats with protein fractions from *Taenia taeniaeformis* and its larvae from *Cysticercus fasciolaris*.
Amer. J. Hyg. 23, 104-113, 1936.
5. ders. : The specific protective property of serum from rats infected with *Cysticercus fasciolaris*.
J. Immunol. 35, 195-204, 1938.
6. ders. : The specific absorbability of protective antibodies against *Cysticercus crassicolis* in rabbits from infected and artificially immunized animals.
J. Immunol. 35, 205-216, 1938.
7. ders. : Further studies on the nonabsorbable protective property in serum from rats infected with *Cysticercus crassicolis*.
J. Immunol. 35, 465-476, 1938.
8. Campbell, D.M., L.R. Melcher : Relationships of sex factors to resistance against *Cysticercus crassicolis* in rats.
J. infect. Dis. 66, 185-188, 1940.
9. Chandler, A.C.: Susceptibility and resistance to helminthic infections.
J. Parasit. 18, 135-152, 1932.
10. Dewhirst, L.W., Trautman, E.J., Pistor, W.J., R.E. Reed : Studies on ante-mortem diagnostic procedures in bovine cysticercosis infections.
J. Parasit. 46 (Suppl.), 25, 1960.
11. Dow, C., W.F.H. Jarrett : Age, strain and sex differences in susceptibility to *C. fasciolaris* in the mouse.
Exp. Parasit. 10, 72-74, 1960.

12. Dow, C., Jarrett, W.F.H., F.W. Jennings : The production of immunity to *Cysticercus fasciolaris*, using x - irradiated oncosphaeres.
Amer. J. vet. Res. 23, 146-149, 1962.
13. Feng, L.C., R. Hoeppele : Attempts to immunize rats and mice against *Cysticercus fasciolaris*.
China med. J. 55, 45-54, 1939.
14. Froyd, G.: The artificial infection of calves with oncosphaeres of *Taenia saginata*.
Res. Vet. Sci. 2, 243-247, 1961.
15. ders.: Cysticercosis and hydatid disease of cattle in Kenya.
J. Parasit. 46, 491-496, 1960.
16. Gemell, M.A.: Natural and acquired immunity factors inhibiting penetration of some hexacanth embryos through the intestinal barrier.
Nature 194, 701-702, 1962.
17. Greenfield, S.H.: Age resistance in albino rats to *Cysticercus fasciolaris*.
J. Parasit. 28, 207-211, 1942.
18. Hinz, E.: Vergleichende Untersuchungen an der experimentellen Cysticercose von Ratte und Maus.
Z. Tropenmed. Parasit. 13, 183-194, 1962.
19. Huffman, J.L., A.W. Jones : Hatchability, viability and infectivity of *Hydatigera taeniaeformis* eggs.
Exp. Parasit. 12, 120-124, 1962.
20. Jones, A.E., Segarra, J.M., K.D. Wyant : Growth and hatching of taeniid eggs.
J. Parasit. 46, 170-174, 1960.
21. Kerr, K.B. Immunity against a cestode parasite, *Cysticercus pisiformis*.
Amer. J. Hyg. 22, 169-182, 1935.
22. Kotlan, A.: Helminthologie.
Academia Verlag, Budapest, 1960.
23. Kraut, N.: An electrophoretic study of Sera from rats artificially infected with and immunized against a larval cestode, *Cysticercus fasciolaris*.
J. Parasit. 42, 109-121, 1956.
24. Küchenmeister, O.: Über die Umwandlung der Finnen in Taenien.
Prager Vierteljahreszeitschrift, 1852.

25. Larsh, J.E.: Host-parasite relationship in cestode infections with emphasis on host resistance. J. Parasit. 37, 343-352, 1951.
26. Leonhard, A.B.: The accelerated tissue response to *Cysticercus pisiformis* in passively immunized rabbits. Amer. J. Hyg. 32, 117-120, 1940.
27. Leonhard, A.B., A.E. Leonhard : The intestinal phase of the resistance of rabbits to the larvae of *Taenia pisiformis*. J. Parasit. 27, 375-378, 1941.
28. Leonhard, A.B., A.E. Smith : The intestinal phase of the immunity of *Cysticercus pisiformis* in rabbits. J. Parasit. 25 (Suppl.), 30-31, 1939.
29. Leuckart, R.: Über die künstliche Erziehung des *Cysticercus fasciolaris* aus den Eiern der *Taenia crassicolis*. Z. wiss. Zool. IV, 139, 1854.
30. Leuckart, R.: Die Blasenbandwürmer und ihre Entwicklung. Ricker'sche Buchhandlung, Giessen, 1856.
31. Miller, H.M.: The production of artificial immunity in the albino rat to a metazoan parasite. J. Prev. Med. 5, 429-452, 1931.
32. ders.: Immunity of the albino rat to super-infestation with *Cysticercus fasciolaris*. J. Prev. Med. 5, 453-464, 1931.
33. ders.: Acquired immunity against a metazoan parasite by use of nonspecific worm materials. Proc. Soc. exp. Biol. 29, 1125-1126, 1932.
34. ders.: Further studies on immunity to a metazoan parasite, *Cysticercus fasciolaris*. J. Prev. Med. 6, 37-46, 1932.
35. ders.: Specific immune serums as inhibitors of infections of a metazoan parasite (*Cysticercus fasciolaris*). Amer. J. Hyg. 19, 270-277, 1934.
36. ders.: Experiments on acquired immunity to a metazoan parasite by use of nonspecific worm materials. Amer. J. Hyg. 21, 27-34, 1935.
37. Miller, H.M., M.L. Gardiner : Protection of the rat against infection with a larval tapeworm by serum from immune rats. Proc. Soc. exp. Biol. 24, 779-780, 1932.

- Miller, H.M., M.L. Gardiner : Passive immunity to infection with a metazoan parasite, *Cysticercus fasciolaris*, in the albino rat. *J. Prev. Med.* 6, 479-496, 1932.
- dieselben : Further studies on passive immunity to a metazoan parasite, *Cysticercus fasciolaris*. *Amer. J. Hyg.* 20, 424-431, 1934.
- Miller, H.M., K.B. Kerr : Attempts to immunize rabbits against a larval cestode, *Cysticercus pisiformis*. *Proc. Soc. exp. Biol.* 29, 670-671, 1932.
- Miller, H.M., E. Massie : Persistence or acquired immunity to *Cysticercus fasciolaris* after removal of the worm. *J. Prev. Med.* 6, 31-36, 1932.
- Penfold, W.J., H.B. Penfold : *Cysticercus bovis* and its prevention. *J. Helminth.* 15, 37-40, 1937.
- Penfold, W.J., Penfold, H.B., M. Phillips : Acquired active immunity in the ox to *Cysticercus bovis*. *Med. J. Aust.* 1, 417-423, 1936.
- dieselben : The criteria of life and viability of mature *Taenia saginata* ova. *Med. J. Aust.* 2, 1-5, 1937.
- dieselben : Artificial hatching of *Taenia saginata* ova. *Med. J. Aust.* 2, 1039, 1937.
- Rohde, K.: Quantitative Infektion von weißen Ratten mit Eiern des Katzenbandwurmes (*Taenia taeniaeformis*) und deren Entwicklung zur Finne (*Cysticercus fasciolaris*). *Z. Tropenmed. Parasit.* 11, 43-53, 1960.
- Schiller, E.I. : Experimental infections with cysticerci of *Taenia taeniaeformis* in laboratory animals. *J. Parasit.* 35, 37-38, 1949.
- Silverman, P.H. : Studies on the biology of some tapeworms of the genus *TAENIA* - 1. Factors affecting hatching and activation of taeniid ova, and some criteria of their viability. *Ann. trop. Med. Parasit.* 48, 207-215, 1954.
- ders.: Studies on the biology of some tapeworms of the genus *TAENIA* - 2. The morphology and development of the taeniid hexacanth embryo and its enclosing membranes, with some notes on the state of development and propagation of gravid segments. *Ann. trop. Med. Parasit.* 48, 356-366, 1954.

50. Silverman, P.H.: A technique for studying the in vitro effect of serum on activated taeniid hexacanth embryos.
Nature 176, 598-599, 1955.
51. ders.: The longevity of eggs of *Taenia pisiformis* and *Taenia saginata* under various conditions.
Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 50, 8, 1956.
52. ders.: Specific and nonspecific in vitro serum reactions to activate taeniid hexacanth embryos.
Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 50, 8, 1956.
53. ders.: The infectivity of a hexacanth embryo of *Taenia pisiformis*.
Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 50, 7, 1956.
54. Sima, I.: Zur Frage der Immunität bei Befall mit *Taenia* und *Cysticercus pisiformis*.
Diss. Budapest, 1938.
55. Sweatman, K.G.: Acquired immunity in lambs infected with *Taenia hydatigena* Pallas, 1766.
Canad. J. comp. Med. 21, 65-71, 1957.
56. Szaflarski, I., Wisniowski, J., E. Dubiel : Rozpoznawanie wagrow waskoszyjnych owiec za pomoca metod serologicznych i alergicznych (Die Diagnose von *Cysticercus tenuicollis* beim Schaf mit Hilfe serologischer und allergischer Methoden
Med. veteryn. 8, 537-539, 1952.
57. Turner, E.L., Dennis, W., D.A. Berberian : The production of artificial immunity against hydatid disease in sheep.
J. Parasit. 23, 43-61, 1937.
58. Wharton, D.R.A.: Skin reactions in rabbits infected with the larval form of *Taenia serrata*.
Amer. J. Hyg. 14, 477-483, 1931.
59. Whitlock, J.H.: Diagnosis of Veterinary Parasitisms.
Lea und Fiebig, Philadelphia, 1960.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Josef Boch, danke ich sehr herzlich für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit gern gewährte Unterstützung bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit.

Mein Dank gilt ferner Herrn Dr. F. Hörchner für seine wertvollen Hinweise, Frau V. Rosenfeld für die Hilfe bei den histologischen Arbeiten und die Anfertigung der Photographien sowie allen übrigen Mitarbeitern des Institutes, die mir ihre Unterstützung zuteil werden ließen.

Lebenslauf

Ich, Peter Albert Bachmann, wurde am 5. März 1939 in Oschersleben/Bode als Sohn des Schlossermeisters Herbert Bachmann und dessen Ehefrau Erika, geb. Goltz geboren.

Von 1945 bis 1953 besuchte ich die Grundschule und von 1953 an die Städtische Oberschule in Forgau, an der ich 1957 das Abitur ablegte.

Von 1957 bis zum WS 1958/59 war ich an der Universität Leipzig immatrikuliert. Im SS 1959 begann ich das Studium der Veterinärmedizin an der Freien Universität Berlin. Hier bestand ich im WS 1961/62 das Physikum. Im WS 1962/63 studierte ich am Royal Veterinary College, London. Das Staatsexamen beendete ich im April 1964 an der Freien Universität Berlin.

Zur Zeit leiste ich das Veterinärpraktikum an der Klinik für kleine Haustiere in Berlin ab.

